



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS PALMA E DE
OLIVEIRA**

Trabalho submetido por
Mariana Filipa Valentim de Jesus
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

novembro de 2016



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS ÓLEOS PALMA E DE
OLIVEIRA**

Trabalho submetido por
Mariana Filipa Valentim de Jesus
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Mestre Ana Pintão

novembro de 2016

Dedicatória

Dedico esta monografia aos meus pais, pelo apoio incondicional.

Agradecimentos

Gostaria de começar por agradecer à minha orientadora Mestre Ana Pintão, por todo o apoio, dedicação e disponibilidade. Quero agradecer por toda a sua paciência e ajuda prestada ao longo da monografia.

Aos meus pais, por nunca me terem deixado desistir e pelo seu amor incondicional. Se não fossem eles não conseguia chegar até aqui e partilhar este momento. Obrigada por estarem sempre lá para mim e por me terem dado as ferramentas para me ter tornado a pessoa que sou hoje. Ao meu irmão e aos meus avós por terem sempre acreditado em mim e por me darem forças para continuar a lutar.

Ao meu namorado, João Nandaia, por ter sido o meu catalisador emocional. Obrigada pelo amor e carinho ao longo destes anos! Obrigada por estares sempre comigo, mesmo quando me sinto a fraquejar, e por acreditares em mim.

Um agradecimento especial às minhas amigas, nomeadamente Margarida Matos, Sara Guedes, Patrícia Garcia, Joana Landeiro, Mariana Lucas, Rita Marques, Cristina Carrasco, por terem sido as minhas companheiras ao longo destes anos de faculdade. Por todos os bons momentos que passamos juntas, pelas sessões de estudo, pelos momentos de desespero, pelas nossas conversas e por terem sido um grande apoio na minha vida académica. Existem amigos para a vida e vocês são a família que eu escolhi.

Às minhas amigas Teresinha e Ritinha por terem sido um apoio incondicional, por me terem acompanhado ao longo destes anos e por me mostrarem que os verdadeiros amigos existem.

O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis – Fernando Pessoa

Resumo

A *Olea europaea* L, é comum na bacia do Mediterrâneo e através do seu fruto pode ser obtido o azeite. O óleo de palma é obtido através do fruto da *Elaeis guineensis* Jacq. Ambos os óleos podem ser extraídos através de vários métodos de extracção variando a qualidade e composição dos óleos consoante o método escolhido.

O azeite e o óleo de palma são ricos em ácidos gordos, compostos fenólicos e terpenos, podendo apresentar diferentes componentes com diferentes percentagens em função da variedade, origem geográfica, condições ambientais e ecológicas.

O azeite é um dos principais componentes da dieta mediterrânica, associada a uma menor incidência de doenças neurodegenerativas e cardiovasculares. Possui atividade no microbioma intestinal e pode prevenir os cálculos biliares. Os extratos de folhas de oliveira possuem ação anti-inflamatória e antidiabética. Considera-se que podem ser úteis na asma, na hipertensão, como diuréticos e para diminuir os níveis de colesterol.

O óleo de palma é usado como auxiliar em desordens gastrointestinais, como diurético, e para prevenir a obesidade e doenças associadas como a diabetes e hipertensão. Os fenóis presentes neste óleo têm um papel preventivo em algumas doenças crónicas, como o cancro, diabetes e doença de Alzheimer. As folhas da *Elaeis guineensis* Jacq. podem ajudar na cicatrização de feridas e são usadas como laxantes.

Tanto o azeite como o óleo de palma possuem atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais e antiparasitárias para uma variedade de microrganismos. Essas actividades são no azeite da responsabilidade dos ácidos gordos, oleuropeína, hidroxitirosol, compostos terpénicos e fenólicos. Extratos de folhas de oliveira possuem actividade para o HIV e para o vírus da septicémia hemorrágica, actividade atribuída à oleuropeína. No óleo de palma são devidas ácidos gordos e nas folhas desta planta a flavonóides, taninos, terpenos e saponinas.

Os constituintes dos óleos podem funcionar como nutracêuticos e estes óleos não apresentam toxicidade nas doses consumidas diariamente.

Palavras-Chave: *Olea europaea* L., *Elaeis guineensis* Jacq., óleos de palma e de oliveira
atividade antimicrobiana

Abstract

Olea europaea L, is common in the Mediterranean basin and by using its fruit the olive oil can be obtained. Palm oil is obtained from the fruit of *Elaeis guineensis* Jacq. Both oils can be extracted through various extraction methods varying the quality and composition of the oils according to the chosen method.

The olive oil and palm oil are rich in fatty acids, phenolic compounds and terpenes, and may present different components with different percentages depending on the variety, geographical origin, environmental and ecological conditions.

The olive oil is one of the main components of the Mediterranean diet, associated with a lower incidence of neurodegenerative and cardiovascular diseases. It has activity in the gut microbiome and can prevent gallstones. The extracts of olive leaves have anti-inflammatory and anti-diabetic action. They can be useful in asthma, hypertension, as diuretics and to lower cholesterol levels.

The palm oil is used as an adjunct in gastrointestinal disorders, and is also used as a diuretic, and to prevent obesity and associated diseases like diabetes and hypertension. The phenols present in this oil play a preventive role in some chronic diseases, such as cancer, diabetes and Alzheimer's disease. The leaves of *Elaeis guineensis* Jacq. can assist in wound healing and are used as laxatives.

Both olive oil and palm oil have proven antibacterial, antifungal, antiviral and antiparasitic activities for a variety of microorganisms. Oleuropein, hydroxytyrosol, terpene and phenolic compounds are the main responsible compounds for these activities in olive oil. Extracts from olive leaves have activity for HIV and for hemorrhagic septicemia virus, activity attributed to oleuropein. In palm oil these activities are due to flavonoids, tannins, terpenes and saponins.

The constituents of the oils can function as nutraceuticals and these oils do not present toxicity in the doses consumed daily.

Keywords: *Olea europaea* L., *Elaeis guineensis* Jacq., oil palm and olive oil, antimicrobial activity

Índice Geral

1. Introdução.....	11
1.1. Azeite	11
1.1.1. Identificação e distribuição geográfica.....	11
1.1.2. Método de extração	12
1.1.3. Composição química	14
1.1.3.1. Ácidos gordos.....	14
1.1.3.2. Terpenos	17
1.1.3.3. Fenóis	18
1.1.4. Usos medicinais tradicionais e contemporâneos	19
1.1.5. Atividades medicinais e interações	20
1.2. Óleo de palma	22
1.2.1. Identificação e distribuição geográfica.....	22
1.2.2. Método de extração	23
1.2.3. Composição química	25
1.2.3.1. Ácidos gordos.....	25
1.2.3.2. Terpenos	25
1.2.3.3. Fenóis	26
1.2.4. Usos medicinais tradicionais e contemporâneos	27
1.2.5. Atividades medicinais e interações	27
1.3. Objetivo e metodologia.....	29
2. Atividade antimicrobiana do óleo de palma e de oliveira	31
2.1. Azeite	31
2.1.1. Atividade antibacteriana	31
2.1.1.1. Ensaio in vitro.....	31
2.1.1.2. Ensaio clínico	32

2.1.1.3.	Extratos de folhas da oliveira	33
2.1.2.	Atividade antifúngica	34
2.1.2.1.	Ensaio in vitro	34
2.1.2.2.	Ensaio clínico	36
2.1.2.3.	Extratos de folhas da oliveira	36
2.1.3.	Atividade antiviral	37
2.1.3.1.	Ensaio in vitro	37
2.1.3.2.	Extratos de folhas da oliveira	37
2.1.4.	Atividade antiparasitária	38
2.1.4.1.	Ensaio in vitro	38
2.1.4.2.	Ensaio in vivo em animais	39
2.2.	Óleo de palma	39
2.2.1.	Atividade antibacteriana das folhas da <i>Elaeis guineensis</i>	40
2.2.1.1.	Ensaio in vitro	40
2.2.1.2.	Ensaio in vivo em animais	41
2.2.2.	Atividade antifúngica das folhas da <i>Elaeis guineensis</i>	42
2.2.2.1.	Ensaio in vivo	42
2.2.3.	Atividade antiviral	42
2.2.3.1.	Ensaio in vitro	42
2.2.4.	Atividade antiparasitária	42
2.2.4.1.	Ensaio in vivo em animais	42
2.3.	Comparação potencial antimicrobiana	43
3.	Utilização alimentar	45
3.1.	Azeite	45
3.2.	Óleo de palma	45
3.3.	Toxicidade/Efeitos adversos	46

3.3.1. Azeite.....	46
3.3.2. Óleo de palma.....	46
4. Conclusão	49
5. Referências bibliográficas.....	51

Índice de figuras

Figura 1. <i>Olea europaea</i> L. inflorescência e fruto da oliveira	11
Figura 2. Azeite extraído por região em 2015-2016	13
Figura 3. Produção do azeite e a sua colheita	14
Figura 4. Estrutura química dos principais ácidos gordos	16
Figura 5. Estrutura química da vitamina E	18
Figura 6. <i>Elaeis guineensis</i> . Jacq.....	22
Figura 7. Corte transversal do fruto da <i>Elaeis guineensis</i> Jacq.	23
Figura 8. Representação fotográfica da evolução da cicatrização ao longo dos dias de tratamento	41
Figura 9. Percentagem de parasitas observadas nas fezes dos grupos A,B,C no dia 0, no dia 60 e no dia 120	43

Índice de Tabelas

Tabela 1: Tipos de azeites comercializados, características organolépticas e acidez	13
Tabela 2: Composição em percentagem dos ácidos gordos no azeite em zonas do mediterrâneo	15
Tabela 3. Classificação dos principais ácidos gordos.....	16
Tabela 4: Usos tradicionais e contemporâneos da <i>Olea europaea</i> L.	19
Tabela 5: Comparação da extração com o método de água quente de alta pressão e outros métodos. NA- não aplicável	24
Tabela 6: Composição dos ácidos gordos no óleo de palma	25
Tabela 7: Composição dos esteróis presentes no óleo de palma	25
Tabela 8: Composição dos carotenóides presentes no óleo de palma	26
Tabela 9: Composição dos componentes da vitamina E presentes no óleo de palma....	27
Tabela 10: Resistência antifúngica contra o fluconazol, voriconazol, azeite e óleo de canela entre as várias espécies de <i>Candida</i>	35
Tabela 11: Efeito do azeite em infeções fúngicas realizadas em ensaios clínicos	36

Lista de abreviaturas

CLA- Ácido linoleico conjugado

CMI- Concentração mínima inibitória

EPA- ácido eicosapentaenóico

HIV- Vírus da imunodeficiência humana

HSV-1- Herpes simples tipo 1

MRSA- *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina

1. Introdução

Os óleos de palma e de oliveira são muito utilizados hoje em dia, devido aos seus efeitos na saúde. Estes podem ter atividades na hipertensão, na diabetes, na aterosclerose, entre outras. Os óleos podem ter atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais e antiparasitárias.

Ao longo da pesquisa realizada, constatou-se que muitas das atividades antimicrobianas se devem a alguns constituintes que fazem parte da sua composição. Os extratos das folhas de *Olea europaea* L. e de *Elaeis guineensis* Jacq. possuem igualmente atividade antimicrobiana.

1.1. Azeite

1.1.1. Identificação e distribuição geográfica

O azeite é obtido através do fruto da oliveira, *Olea europaea* L., sendo esta uma dicotiledónea, pertencente à família *Oleaceae*, que engloba 30 géneros e 600 espécies. A oliveira atinge um máximo de 10 metros de altura (Luchetti, 2002). As suas folhas são glabras, coriáceas (Hashmi, Khan, Hanif, Farooq, & Perveen, 2015), persistentes e com forma lanceolada (Luchetti, 2002). As flores são bissexuais ou funcionalmente unissexuais, pequenas e com uma cor branca cremosa. O fruto é uma drupa, pequena, ovóide e com cor verde a negro-violeta quando se encontra maduro (Figura 1) (Hashmi *et al.*, 2015).



Figura 1. *Olea europaea* L. inflorescência e fruto da oliveira

(adaptado de Hashmi *et al.*, 2015)

O género *Olea* adota o seu nome a partir do grego *Elaia* e do latim *Oleum*, e a espécie *Olea europaea* é a mais conhecida, sendo a única que é utilizada para se obter produtos alimentares. A oliveira é uma das árvores mais antigas cujo cultivo remonta a mais de 7000 anos (Hashmi et al., 2015). As oliveiras são oriundas da bacia do mar Mediterrâneo e de algumas zonas da Ásia Menor e começaram a expandir-se a partir das áreas do Mediterrâneo para Itália, Portugal, Espanha, Grécia e França (Hashmi et al., 2015). Em 1492 com a descoberta da América, a oliveira foi introduzida pela primeira vez no Brasil e expandida para o Novo Mundo (Owoyele & Owolabi, 2014). Atualmente ocorre espontaneamente ou cultivada em zonas costeiras da bacia do Mediterrâneo, sul da Europa, norte do Irão, Ásia ocidental e norte de África (Hashmi et al., 2015). Recentemente a África do Sul, Austrália, Japão e China começaram também a produzir a azeitona (Luchetti, 2002). Atualmente os maiores produtores de azeitonas são a Espanha, Itália e Grécia que representam em conjunto 60% da produção mundial (Hashmi et al., 2015).

Esta espécie possui várias variedades e cultivares sendo a mais comum em Portugal a *Olea europaea*, subesp. *europaea*, var. *europaea*, ocorrendo também espontaneamente o zambujeiro (*Olea europaea* L., subespécie *europaea*, variedade *sylvestris*) (Esteve et al., 2012).

1.1.2. Método de extração

O azeite é um óleo alimentar extraído da azeitona por métodos físicos, sem interferência de solventes químicos. De acordo com o método de extração utilizado classifica-se o azeite como azeite virgem, que é o azeite obtido diretamente da azeitona, e o azeite refinado que é obtido por refinação do anterior. Existem vários tipos e qualidades de azeites, que podem ser comercializados com as seguintes designações de acordo com a percentagem de acidez e características organoléticas (Tabela 1) (Decreto-lei nº 343/88 artigo nº 8).

Tabela 1: Tipos de azeites comercializados, características organoléticas e acidez (adaptado de Decreto-lei n° 343/88 artigo n° 8)

Tipo de azeite	Características	Acidez expressa em ácido oleico (%)
Virgem extra	Gosto irrepreensível	≤ 1
Virgem	Gosto irrepreensível	≤ 2
Virgem corrente	Gosto irrepreensível	≤ 3,3
Virgem lampante	Gosto defeituoso	≤ 3,3
Refinado	Obtido através da refinação do azeite virgem	≤ 0,5
Azeite	Mistura de azeite refinado com azeite virgem, excluindo o lampante	≤ 1,5

O Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral efetuou um inquérito a 160 lagares, entre Outubro de 2015 e Janeiro de 2016, tendo previsto que a produção nacional de azeite em 2016 chegaria às 99,3mil toneladas, o que representa um aumento de 63% em relação ao ano anterior. O Alentejo é responsável por cerca de 76% da produção nacional de azeite e as outras regiões registaram aumentos significativos de produção em relação a anos anteriores (Figura 2).

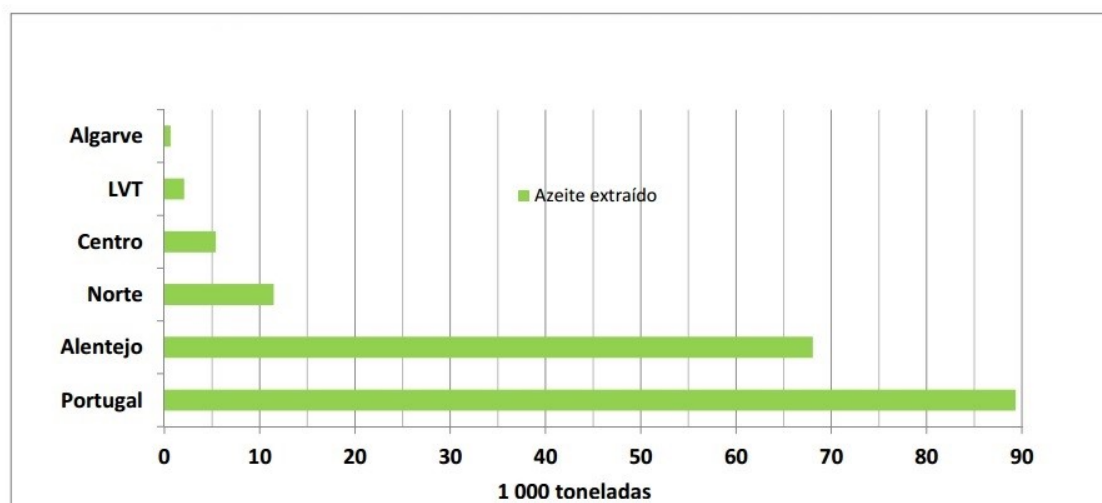


Figura 2. Azeite extraído por região em 2015-2016 (adaptado GPP)

O azeite é extraído por vários métodos clássicos, como a prensagem, o método mais antigo que consiste em exercer pressão sobre as azeitonas, a filtração seletiva, e através de decantadores bifásicos ou trifásicos (Al-Otoom et al., 2014).

Na filtração seletiva, o azeite adere a placas de aço inoxidável, escoando para um recipiente, ficando os sólidos e a água retidos nessas placas. Este método, ao contrário do

método da prensa, não é aplicada nenhuma pressão, logo o óleo extraído é um azeite leve e de extrema qualidade. Para se extrair o óleo através de decantadores, a pasta da azeitona que contém água e óleo, tem que se manter nos recipientes, até que o óleo ascenda à superfície, através da gravidade inferior. A partir deste ponto, o óleo é separado da água que resta e do material sólido por decantação (Al-Otoom *et al.*, 2014).

Existe um método mais recente de extração do azeite que é a extração por fluido supercrítico (Al-Otoom *et al.*, 2014). Este método consiste em utilizar solventes com temperaturas acima do seu ponto de ebulição, sob alta pressão, com o intuito de aumentar a eficiência de extração (Serra *et al.*, 2010). O CO₂ é o solvente de eleição por não ser tóxico, não inflamável e de baixo custo. Este processo já tem vindo a ser utilizado por Portugal e Espanha em azeitonas trituradas e constatou-se que o azeite extraído por este processo não altera o seu valor nutricional (Al-Otoom *et al.*, 2014).



Figura 3. Produção do azeite e a sua colheita
(adaptado Owen *et al.*, 2000)

1.1.3. Composição química

1.1.3.1. Ácidos gordos

Os ácidos gordos que constituem o azeite são os componentes mais importantes (Gouvinhas *et al.*, 2015) representando cerca de 98-99% da composição do azeite (Luchetti, 2002). Esta percentagem pode variar, dependendo da zona da produção do azeite, latitude, clima, variedade da azeitona e do seu estado de maturação (Cunha, Amaral, Fernandes, & Oliveira, 2006). Os ácidos gordos são representados por 14% de ácidos gordos saturados, 72% de ácidos gordos monosaturados e 14% de ácidos gordos polinsaturados (Luchetti, 2002).

O ácido oleico é o ácido gordo prevalente, com uma percentagem de 72% e sendo um ácido gordo monoinsaturado, apresenta uma ligação dupla o que o torna menos vulnerável à oxidação. Existem outros ácidos igualmente importantes, como por exemplo o ácido palmítico (ácido gordo saturado) e o ácido linoleico (ácido gordo polinsaturado), entre outros (Cunha *et al.*, 2006). No entanto, a composição dos ácidos gordo pode variar consoante a região, por exemplo no mediterrâneo o ácido oleico representa 67,2% dos ácidos gordos (Tabela 2) (Oğraş, Kaban, & Kaya, 2016).

Tabela 2: Composição em percentagem dos ácidos gordos no azeite em zonas do mediterrâneo (adaptado de Oğraş et al., 2016)

Ácido gordo	Composição (%)
Palmítico	13.59
Palmitoleico	1.15
Esteárico	2.41
Linoleico	10.90
Oleico	67.20

A ingestão de elevada quantidade de ácidos gordos saturados, como o palmítico, pode aumentar o risco de doença arterial. Os ácidos gordos insaturados, como o oleico, tem um par de átomos de hidrogénio na sua cadeia. O azeite é um dos alimentos rico neste ácido e pode levar a um menor risco de doença arterial coronária. Os ácidos gordos polinsaturados, como o linoleico, têm 2 ou mais pares de hidrogénio (Tabela 3 e Figura 4) (Boateng, Ansong, Owusu, & Steiner-Asiedu, 2016).

Tabela 3. Classificação dos principais ácidos gordos (adaptado IPMA)

Nomen. abreviada n1:n2n3	Nome sistemático	Nome comum	Fórmula estrutural
16:0	<i>n</i> -Tetradecanóico	Ác. mirístico	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH
18:0	<i>n</i> -Hexadecanóico	Ác. palmítico	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH
	<i>n</i> -Octadecanóico	Ác. esteárico	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH
16:1n7	<i>cis</i> -9-hexadecenóico	Ác. palmitoleico	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
18:1n9	<i>cis</i> -9-octadecenóico	Ác. oleico	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
18:2n6	9,12-octadecadienóico	Ác. linoleico	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
18:3n3	9,12,15-octadecatrienóico	Ác. α-linolénico	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₄ (CH ₂) ₂ COOH
20:5n3	5,8,11,14,17-eicosapentaenóico	Ác. EPA	CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₅ (CH ₂) ₂ COOH
22:6n3	4,7,10,13,16,19-docosahexaenóico	DHA	CH ₃ CH ₂ (CH=CHCH ₂) ₆ (CH ₂)COOH

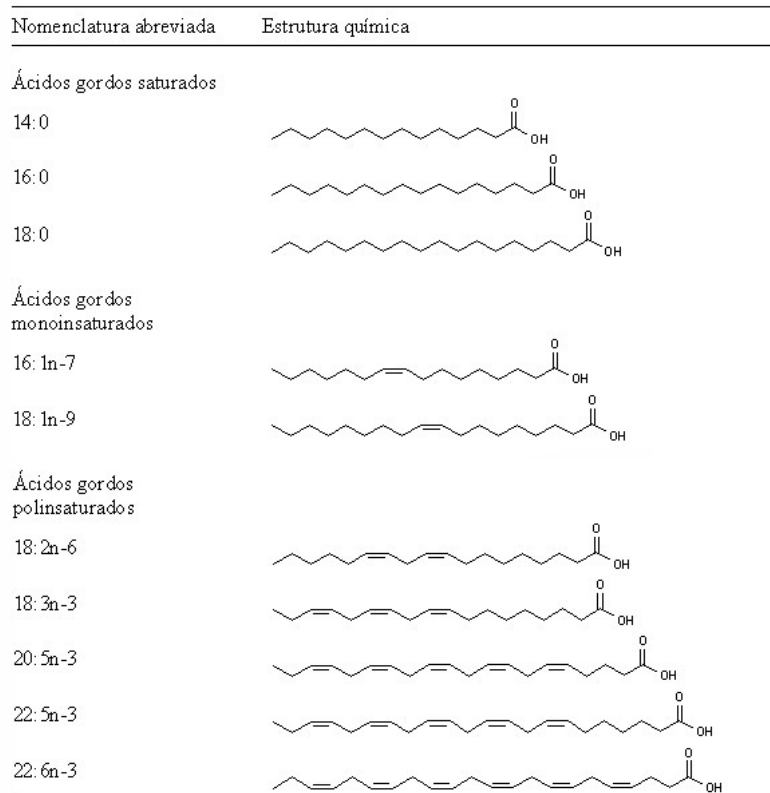


Figura 4. Estrutura química dos principais ácidos gordos (adaptado IPMA)

1.1.3.2. Terpenos

Os compostos voláteis são responsáveis pela qualidade do azeite. Os compostos aromáticos voláteis, maioritariamente monoterpenos e sesquiterpenos com 10 e 15 átomos de carbono, são responsáveis pelo aroma característico do azeite, sendo extraídos, durante e após a extração do azeite (Kalua et al., 2007). O azeite tem cerca de 280 compostos voláteis, como os hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos, ésteres, éteres, derivados de furano, derivados de tiofeno, piranonas, tióis e um composto de pirazina. No entanto, nem todos os compostos voláteis são responsáveis pelo aroma, porque se tiverem presentes em baixas concentrações, dificilmente são detetados (Boskou et al., 2006).

Os ácidos terpénicos são triterpenos pentacíclicos naturais e como exemplos deste grupo temos o ácido oleanólico e o ácido maslínico (Sifaoui et al., 2014), sendo este último derivado do ácido oleanólico (De Pablos et al., 2010).

Os esteróis são um elemento de identidade do azeite, que garantem a qualidade do mesmo e a sua genuinidade (Belitz et al., 2004). O principal esteroide presente no azeite é o β -sitosterol, representando cerca de 90-95% do total dos esteróis. Existem outros com concentrações mais baixas, entre os quais, o estigmasterol, colesterol, 24-metileno-colesterol, clerosterol, sitostanol, entre outros (Sánchez et al., 2001). Os diferentes esteróis diferem no número e posições das duplas ligações (Gutiérrez & Carretero, 2009).

O esqualeno é um triterpeno e é representado numa concentração muito reduzida no azeite (0,7%), mas este valor diverge entre o azeite virgem extra e o azeite refinado, tendo o primeiro uma quantidade mais elevada deste composto. Este terpeno é ubíquo na natureza e interfere na biossíntese do colesterol (Waterman & Lockwood, 2007).

Os carotenóides têm um papel importante no grau de oxidação do azeite, devido às suas propriedades antioxidantes e, em concomitância com os tocoferóis e com os compostos fenólicos colaboram para a estabilidade oxidativa do azeite, e têm um efeito antioxidante sinérgico (Giuffrida, Salvo, Salvo, La Pera, & Dugo, 2007). O β -caroteno é o carotenóide encontrado em maior concentração nos azeites virgens, que contém também xantófilas, neoxantina, luteróxantina, entre outros carotenóides (Gandul-Rojas & Mínguez-Mosquera, 1996).

1.1.3.3. Fenóis

Os fenóis possuem efeitos benéficos para a saúde e os seus níveis nos azeites podem variar entre 196-500mg/kg, não sendo a sua concentração igual em todos os tipos de azeite. O azeite virgem extra tem uma concentração mais elevada de fenóis do que o azeite virgem refinado (Waterman & Lockwood, 2007).

No azeite existem três grandes grupos de compostos fenólicos: os fenóis simples, secoiridóides e linhanas. Os fenóis simples são álcoois fenólicos (Alagna *et al.*, 2012) e incluem o hidroxitirosol e o tirosol (Waterman & Lockwood, 2007). Os álcoois fenólicos são os ácidos gálicos, vanílico, benzóico, cinâmico, cafeico e cumárico (Bulotta *et al.*, 2014).

A oleuropeína, estudada pela sua actividade antiviral, faz parte do grupo dos secoiridóides e é o fenol que está presente em maior quantidade nos extratos da folha de oliveira, conjuntamente com os álcoois fenólicos e o ligustrósido. Foi identificado no azeite virgem extra (Alagna *et al.*, 2012) um derivado do grupo dos secoiridóides, o oleocantal com interesse biológico medicinal (Waterman & Lockwood, 2007). Para além destes compostos o azeite também possui flavonóides na sua composição (Alagna *et al.*, 2012).

A vitamina E é um outro constituinte do azeite com elevado teor antioxidante. Esta vitamina é constituída por tocoferóis e tocotrienóis, e os tocoferóis são o grupo mais importante devido ao seu maior potencial antioxidante. No azeite virgem 95% do total dos tocoferóis está na forma α -tocoferol (Cunha *et al.*, 2006).

Os tocoferóis e tocotrienóis têm muitos isómeros que diferem na estrutura, consoante o número de localização de grupos substituintes do anel cromanol (Figura 5) (Guinaz, Milagres, Pinheiro-Sant'Ana, & Chaves, 2009).

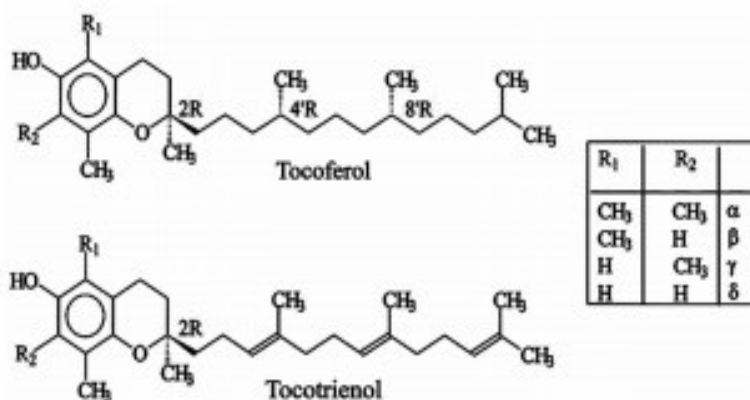


Figura 5. Estrutura química da vitamina E (adaptado de Guinaz, Milagres, Pinheiro-Sant'Ana, & Chaves, 2009)

Os isómeros γ - e δ -tocoferol são os compostos que estão associados ao potencial antioxidante. No entanto, alguns estudos apontam que os tocotrienóis são os mais potentes na atividade antioxidante *in vitro*, mas o potencial *in vivo* ainda tem que ser avaliado. A vitamina E tem outras aplicações, como a prevenção de doenças neurodegenerativas, aterosclerose, inflamação crónica, cancro e envelhecimento precoce (Guinaz et al., 2009).

1.1.4. Usos medicinais tradicionais e contemporâneos

A partir da oliveira obtém-se inúmeras preparações medicinais que têm sido usadas ao longo do tempo, para várias patologias, sendo usadas para hipotensão, diabetes, diarreia, entre outros. Tanto o azeite como os extratos de folhas, frutos e de sementes podem ter usos medicinais diversos (Tabela 4) (Hashmi et al., 2015).

Tabela 4: Usos tradicionais e contemporâneos da *Olea europaea* L. (adaptado de Hashmi et al., 2015)

Parte/ Preparação usada	Doença/ Uso
Azeite	Aplicado em membros fraturados
Azeite + sumo de limão	Cálculos biliares
Azeite/aplicado no couro cabeludo	Prevenção da queda de cabelo
Azeitona	Limpeza de pele
Preparações de folhas	Gota
Folhas <i>Olea europaea</i>	Antibacteriano
Folhas e frutos/infusões e macerações	Hipoglicemia e hipotensão
Infusão de frutos ou folhas	Antidiabético
Frutos e folhas	Hemorroidas, reumatismo e vasodilatador
Infusão de folhas/uso oral	Antipirético
Infusão de folhas/uso oral	Anti-inflamatório, tónico
Infusão de folhas	Infeções do olho
Decocção folhas secas e fruto/uso oral	Diarreia, infeções respiratórias e urinárias
Decocção folhas	Antidiabético, anti-hipertensivo
Extrato fervido de folhas frescas / via oral	Asma
Extrato fervido das folhas secas/via oral	Hipertensão
Extratos de folhas em água quente	Diurético
Óleo de sementes	Laxativo

Existe eficácia comprovada nas utilizações do azeite para as infeções do ouvido, queimaduras, psoríase, estrias derivadas da gravidez e como proteção dos raios ultravioleta (NIH, 2016).

1.1.5. Atividades medicinais e interações

O azeite é um dos alimentos da dieta mediterrânica que mais contribui para os efeitos benéficos na saúde, sendo esta uma dieta com um elevado grau de gordura. A dieta mediterrânica está associada a uma diminuição de doenças degenerativas, doenças cardiovasculares, cancro da mama, pele e cólon (Waterman & Lockwood, 2007).

O efeito da dieta mediterrânica foi avaliado ao nível das doenças cardiovasculares e os indivíduos que faziam esta alimentação reduziam a incidência dos riscos cardiovasculares (Estruch *et al.*, 2013).

A adoção da dieta mediterrânica origina uma menor predisposição para a doença de Alzheimer (Scarmeas, Stern, Tang, Mayeux, & Luchsinger, 2006). Tem sido demonstrado que a dieta mediterrânica diminui o risco de ocorrer cancro do colo-retal (Rosato *et al.*, 2016), cancro da mama (Buckland *et al.*, 2013), cancro do ovário, cancro da próstata, entre outros (Lipworth, Martínez, Angell, Hsieh, & Trichopoulos, 1997).

A dieta mediterrânica é constituída por frutas, nozes, legumes, cereais, peixe e aves (Estruch *et al.*, 2013) e pode incluir até 25-50 ml diários de azeite virgem extra (Cicerale, Lucas, & Keast, 2012). Estes alimentos funcionam como agentes protetores na saúde, para o que o azeite contribui pelas suas atividades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias, como demonstrado *in vitro* e *in vivo*, graças aos seus compostos fenólicos (Cicerale *et al.*, 2012).

O azeite é rico em ácido oleico o que pode justificar a baixa incidência de doenças crónicas em indivíduos que têm uma alimentação à base da dieta mediterrânica (Waterman & Lockwood, 2007).

O azeite tem atividade anti-inflamatória, sendo benéfico na diabetes, no cancro, em doenças cardiovasculares e reduz os níveis da hormona estimulante da tiróide (Salem *et al.*, 2015), na hipercolesteremia e hipertensão (Waterman & Lockwood, 2007).

O azeite pode ter ação no microbioma intestinal através dos compostos fenólicos que constituem o azeite. Estes componentes por não serem totalmente absorvidos na parte superior do trato gastrointestinal, vão para a porção inferior onde são metabolizados pela microflora intestinal e evidenciando eficácia *in vitro* como inibidores de alguns agentes patogénicos do microbioma gastrointestinal, como por exemplo *Escherichia coli* e *Helicobacter pylori* (Martín-Peláez *et al.*, 2013).

Os compostos fenólicos presentes no azeite têm atividades específicas, por exemplo o esqualeno que pode ajudar na prevenção do cancro e a oleuropeína tem actividade antiviral para a mononucleose infecciosa, hepatite, vírus sincicial respiratório, parainfluenza tipo 3, entre outros (Micol *et al.*, 2005). O oleocantal tem ação anti-inflamatória e funciona como agente terapêutico no cancro, e esta atividade foi demonstrada para células do melanoma humano (Fogli *et al.*, 2016).

O azeite tem um efeito benéfico no que diz respeito ao aumento de peso em bebés prematuros, pois os bebés, massajados com azeite durante 10 dias, obtiveram um ganho de peso de 21g por dia em comparação com bebés que eram massajados sem óleo e só aumentavam 7g por dia. Esta diferença pode ser devida ao simples fato de o óleo ser absorvido através da pele dos prematuros, pois a sua pele é fina e com uma variedade de vasos sanguíneos que absorvem com mais facilidade a gordura, o que leva a um maior consumo calórico, logo ganho de peso (Jabraeile, Rasooly, Farshi, & Malakouti, 2016).

Não existem interações do azeite com alimentos. No entanto, há algumas interações entre o azeite e medicamentos, como os antidiabéticos, anti-hipertensivos e anticoagulantes. Os antidiabéticos e o azeite diminuem os níveis de açúcar no sangue, logo tomando os dois em concomitância podem diminuir em demasia os açúcares no sangue. A glimepirida, insulina, pioglitazona, rosiglitazona são alguns dos medicamentos antidiabéticos. Tanto o azeite como os medicamentos anti-hipertensivos, podem baixar a pressão arterial, daí não se poder tomar os dois em conjunto. Alguns medicamentos que pertencem a este grupo são captopril, enalapril, losartan, valsartan, diltiazem, hidroclorotiazida, furosemida, entre outros. Os anticoagulantes em conjunto com o azeite podem tornar a coagulação lenta e aumentar as hipóteses de hematomas e sangramento. O clopidogrel, diclofenac, ibuprofeno, naproxeno, heparina, varfarina, são alguns dos medicamentos anticoagulantes. O azeite possui algumas interações com suplementos e plantas que reduzem a pressão arterial ou que reduzem os níveis de açúcar no sangue (NIH, 2016).

Os extratos das folhas da oliveira também são utilizadas como diuréticos, hipotensores, antiarrítmicos e espasmolítico no músculo liso do intestino, devido aos terpenos e fenóis que constituem o azeite (Salem *et al.*, 2015). Para além destas atividades ainda são usadas na gripe, na gripe suína, meningite, vírus Epstein-Barr, encefalites, herpes, zona, vírus da imunodeficiência humana (HIV), hepatite B, pneumonia, tuberculose, gonorreia, febre, malária, dengue (NIH, 2016). O efeito anti hipertensivo de

um extrato da folha da oliveira foi avaliado num ensaio clínico, e verificou-se que extrato diminuiu os valores de LDL, colesterol total e triglicéridos e para além disso diminuiu a pressão arterial nos indivíduos (Susalit *et al.*, 2011).

As várias atividades antimicrobianas apresentadas pelo azeite e extratos da oliveira serão analisadas em detalhe no capítulo 2.

1.2. Óleo de palma

1.2.1. Identificação e distribuição geográfica

O óleo de palma é obtido através do fruto da *Elaeis guineensis* Jacq. A palmeira, *Elaeis guineensis* Jacq., é uma monocotiledónea e pertence à família *Arecaceae* (Figura 6) (Sundram, Sambanthamurthi, & Tan, 2003).



Figura 6. *Elaeis guineensis*.Jacq. (adaptado de Rival & Levang, 2015)

O género *Elaeis* engloba duas espécies: *Elaeis guineensis* e *Elaeis oleifera* (Sundram *et al.*, 2003). A *Elaeis guineensis* Jacq. tem origem africana (Golfo da Guiné), encontra-se em áreas tropicais como a América e Sudeste Asiático (Odia, 2015) e a espécie *Elaeis oleifera* é originária da América do Sul (Sundram *et al.*, 2003). A *Elaeis guineensis* Jacq. desenvolve-se em climas tropicais e deixa de crescer a 15°C, pelo que ambientes frios e secos são prejudiciais para o seu crescimento (Rival & Levang, 2015).

O pericarpo é constituído por 3 camadas: o exocarpo (pele), o mesocarpo que é o local onde o óleo de palma se aloja e o endocarpo que é uma casca dura que envolve a semente (Figura 7) (Owoyele & Owolabi, 2014).

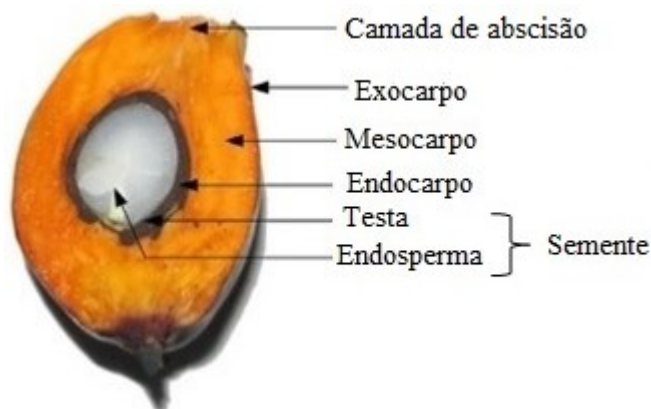


Figura 7. Corte transversal do fruto da *Elaeis guineensis* Jacq. (adaptado de Harun, Che Yunus, Ismail, & Morad, 2016)

1.2.2. Método de extração

O óleo de palma é uma gordura vegetal no estado sólido, à temperatura de 20°C e isento de impurezas (Decreto-Lei nº106/2005, artigo nº2).

O óleo de palma é cultivado em 42 países e em cerca de 11 milhões de hectares em todo o mundo (Teixeira, Macedo, Macedo, da Silva, & Rodrigues, 2013). Atualmente os maiores produtores do óleo de palma são a Malásia e a Indonésia (Odia, 2015) e em conjunto representavam cerca de 86% da produção mundial (Mancini *et al.*, 2015). Estima-se que a produção de óleo de palma na Malásia em 2020, venha a atingir os 22,2 milhões de toneladas e em 2035 a produção alcance os 26,6 milhões de toneladas e espera-se que o produto exportado pela Malásia, aumente 25,2 milhões de toneladas (Gan & Li, 2014).

O óleo de palma bruto pode ser extraído a partir do mesocarpo, pelo método da extração com água quente a alta pressão, tendo sido comparado com outros mecanismos de extração (Tabela 5) (Md Sarip *et al.*, 2016).

Tabela 5: Comparação da extração com o método de água quente de alta pressão e outros métodos. NA- não aplicável (adaptado de Md Sarip et al., 2016)

Método de extração	Rendimento do óleo de palma bruto (g óleo/g de mesocarpo seco)	Ácidos gordos livres (%)
Extração com água quente a alta pressão	0.700	0.85
Extração supercrítica com CO₂	0.77	0,61
Extração aquosa enzimática	0.71	NA
Extração subcrítica R134a	0,66	NA

Dependendo do procedimento, utilizam-se diferentes amostras do mesocarpo o que faz com que haja diferenças do rendimento do óleo de palma. O método que obteve menor rendimento foi o método de água quente a alta pressão e o maior rendimento obtido foi o da extração supercrítica com CO₂, seguido da extração aquosa enzimática. A nível dos ácidos gordos livres, o método de água quente a alta pressão origina uma maior concentração destes ácidos do que a extração supercrítica com CO₂ (Md Sarip *et al.*, 2016).

A extração enzimática aquosa é um processo que permite não só a extração do óleo de palma, mas também dos seus compostos com propriedades antioxidantes como os fenóis e carotenóides. Teixeira *et al.* (2013) testaram uma nova enzima, a tanase, que aumenta a extração de compostos antioxidantes, em conjunto com a celulase e pectinase que degradam a parede celular. A tanase demonstrou um aumento no rendimento da extração, melhorando a qualidade da amostra do óleo através do aumento dos compostos bioativos, como os compostos fenólicos e carotenóides. A extração enzimática aquosa é um procedimento considerado inócuo para o ambiente e leva a que o óleo extraído seja de alta qualidade.

A extração do óleo de palma pode ser efetuada através de solventes puros, como o etanol, propano e a sua mistura. Ambos os solventes originam um bom rendimento o que faz com que este seja considerado um método vantajoso para a extração do óleo, no entanto o propano puro é considerado melhor que o etanol puro (Jesus *et al.*, 2013).

1.2.3. Composição química

1.2.3.1. Ácidos gordos

O óleo de palma é composto por 50% de ácidos gordos saturados, 40% de ácidos gordos monoinsaturados e 10 % de ácidos gordos polinsaturados. Os ácidos gordos predominantes no óleo de palma são o ácido palmítico, oleico e linoleico (Tabela 6) (Rival & Levang, 2015).

Tabela 6: Composição dos ácidos gordos no óleo de palma (adaptado de Sundram et al., 2003)

Ácido gordo	Composição (%)
Láurico	0,3
Mirístico	1,1
Esteárico	4,3
Linoleico	10,2
Palmítico	43,5
Oleico	39,8

Os ácidos gordos saturados presente no óleo de palma, em quantidades vestigiais como o ácido láurico e mirístico, têm a capacidade de elevar o LDL e o colesterol, enquanto que o ácido palmítico, que está representado em maior percentagem, não eleva tanto os valores de LDL e do colesterol (Boateng et al., 2016).

1.2.3.2. Terpenos

Os esteróis predominantes no óleo de palma são o β -sitosterol, o campesterol e o estigmasterol e em menor quantidade o colesterol (Tabela 7)(Sundram *et al.*, 2003). Os esteróis são lipofílicos e são facilmente absorvidos no trato gastrointestinal sendo posteriormente convertidos em colesterol (Wattanapenpaiboon & Wahlqvist, 2003).

Tabela 7: Composição dos esteróis presentes no óleo de palma (adaptado de Sundram et al., 2003)

Esteróis	Composição (%)
Colesterol	4
Campesterol	21
Estigmasterol	21
β sitosterol	63

O esqualeno presente no óleo de palma protege contra a oxidação (Odia, 2015) e em concentrações elevadas tem um *feedback* negativo na função da HMG-CoA redutase, que é uma enzima envolvida na produção de colesterol (Boateng et al., 2016). O esqualeno é

um composto que se inclui nos nutracêuticos e cosméticos, pelos seus efeitos anti-envelhecimento e pela sua atividade de revitalizar células corporais (Tan, Sambanthamurthi, Sundram, & Wahid, 2007).

Os carotenóides são tetraterpenos altamente insaturados e dividem-se em carotenos e xantofilas. Os carotenóides predominantes são os α e β carotenos que representam 90% dos carotenóides totais (Sambanthamurthi, 2000) e os restantes são o γ caroteno, licopeno e as xantofilas (Tabela 8) (Goh, Choo, & Ong, 1985). Os carotenóides são os componentes que dão a cor ao óleo de palma, sendo que esta pode variar entre o amarelo e o vermelho (Owoyeye & Owolabi, 2014).

Tabela 8: Composição dos carotenóides presentes no óleo de palma (adaptado de Sundram et al., 2003)

Carotenóides	Composição (%)
α Caroteno	36,2
β Caroteno	54,4
γ Caroteno	3,3
Licopeno	3,8
Xantofilas	2,2

Os carotenos são importantes no óleo de palma porque previnem a cegueira noturna, auxilia na manutenção e crescimento de tecidos (Boateng et al., 2016).

1.2.3.3. Fenóis

No óleo de palma as classes principais de polifenóis são os ácidos fenólicos e os flavonoides, sendo que os grupos menos abundantes são os estilbenos e linhanas (Wattanapenpaiboon & Wahlqvist, 2003).

O grupo dos ácidos fenólicos são os ácidos hidroxicinâmicos e o mais frequente é o ácido cafeico (Wattanapenpaiboon & Wahlqvist, 2003).

A vitamina E presente no óleo de palma é uma mistura de fenóis metilados solúveis nos lípidos e com muitas funções no organismo (Sambanthamurthi, 2000)

Tabela 9: Composição dos componentes da vitamina E presentes no óleo de palma (adaptado de Sundram et al., 2003)

Vitamina E	Composição (%)
α tocoferol	28
α tocotrienol	29
γ tocotrienol	28
δ tocotrienol	14

1.2.4. Usos medicinais tradicionais e contemporâneos

O óleo de palma é usado de modo tradicional para cozinhar, como óleo alimentar, produzir margarina e pode ser utilizado na confecção de gelados (Teixeira *et al.*, 2013), sendo uma excelente alternativa aos óleos trans, porque não altera as características dos alimentos e torna os cozinhados mais saudáveis (Sun *et al.*, 2015). Os óleos trans podem ser naturais ou obtidos por hidrogenação, mas neste caso podem estar associados a um maior risco de doenças cardiovasculares, infertilidade, endometriose, cálculos biliares, doença de Alzheimer, diabetes e alguns cânceros (Boateng et al., 2016). Para além da cozinha é usado para o fabrico de sabões, cremes, entre outros produtos diários, ceras, pastas dentífricas, lubrificantes (NIH, 2016) e também como afrodisíaco e linimento (Rajoo, Sasidharan, Jothy, Ramanathan, & Mansor, 2013).

Os tocotrienóis presentes no óleo de palma, são consumidos como suplementos dietéticos para a prevenção do cancro da mama e redução dos níveis de colesterol (Wu, Liu, & Ng, 2008).

As folhas da *E. guineensis* podem ser colocadas em feridas para ajudar na cicatrização, sendo a sua seiva usada como laxante. As raízes ajudam a curar a gonorreia, menorragia e bronquite e o óleo fermentado ajuda na lactação. O óleo de palma adicionado a outras ervas, pode funcionar como loção para tratamento de doenças da pele (Yin, Abdullah, & Phin, 2013).

1.2.5. Atividades medicinais e interações

O óleo de palma é usado nas doenças cardiovasculares, na trombose, na aterosclerose, nas cefaleias e como diurético. Pode auxiliar nas desordens gastrointestinais, como sejam a diarreia e disenteria em crianças (Owoyele & Owolabi, 2014). O óleo de palma pode assumir um papel importante nalguns países na prevenção da obesidade e as suas doenças associadas como a diabetes, hipertensão e a hiperlipidemia (Mancini *et al.*, 2015). Vários

estudos de alimentação humana mostraram que o óleo de palma pode reduzir os níveis de colesterol em cerca de 7-38% (Oguntibeju, Esterhuysen, & Truter, 2010). A atividade anti hiperglicemia do óleo de palma foi avaliada, em ratos diabéticos, e verificou-se que o óleo reduziu os níveis de glucose nos animais. Este dado sugere que o óleo de palma pode ser um potencial agente anti hiperglicêmico oral para o tratamento da diabetes (Sharif, Hamid, Ismail, & Adam, 2015). Vários estudos indicam que o óleo de palma reduz os níveis de glucose no sangue e pode ser utilizado como alternativa aos medicamentos para esta patologia, funcionando como agente antidiabético (Adewale, Isaac, Tunmise, & Omoniyi, 2016; Ayeleso, Oguntibeju, & Brooks, 2015; Sharif et al., 2015). O óleo de palma tem evidência de eficácia contra o envelhecimento, na malária e em casos de envenenamento por cianeto (NIH, 2016).

A citotoxicidade do extrato metanólico das folhas da *Elaeis guineensis* Jacq. foi avaliada em linhagens celulares tumorais, não apresentando atividade significativa para as células Vero, mas exibindo atividade para a linha de cancro da mama MCF-7. Observou-se que as linhagens celulares, por microscopia de contraste de fase, apresentavam alterações morfológicas, quando submetidas ao extrato de uma forma dose-dependente, ao fim de 24h de incubação. Demonstrado o potencial do extrato como anticancerígeno em células do cancro da mama, os seus compostos ativos poderão vir a ser estudados *in vivo* e em ensaios clínicos como agentes contra o cancro (Vijayarathna & Sasidharan, 2012).

A vitamina E, presente no óleo de palma, atua como antioxidante, protegendo contra o *stress* oxidativo e possui efeito protetor na aterosclerose (Che Idris *et al.*, 2014). Os tocotrienóis abundantes neste óleo são potentes antioxidantes, podem reduzir os valores de colesterol, auxiliam no controlo da aterosclerose e na prevenção de alguns cancros. Podem também ser utilizados na prevenção de doenças inflamatórias (Wu *et al.*, 2008). Estudos realizados indicam que o tocotrienol tem efeito no cancro por inibição do crescimento tumoral e por gerar a apoptose das células malignas do cancro (Goh, Hew, Norhanom, & Yadav, 1994; Srivastava & Gupta, 2006).

Os carotenoides, responsáveis pela cor do óleo de palma, são agentes preventivos do cancro e existem estudos *in vitro* que demonstram que o licopeno e α -caroteno têm propriedades antioxidantes e antiproliferativas. O efeito dos carotenoides na tumorigenicidade de células humanas MCF-7 foi avaliado e injetaram-se células cancerígenas do cancro da mama humano em ratos atímicos em ensaios xenográficos.

Estes componentes tiveram um papel fundamental na supressão do crescimento de células MCF-7, prevenindo o cancro da mama e comprovando o seu potencial como um agente anticancerígeno (Nesaretnam *et al.*, 2002).

Os polifenóis presentes no óleo de palma representam um papel preventivo em certas doenças crónicas, como a doença cardiovascular, cancro, diabetes, doença de Alzheimer, entre outras (Wattanapenpaiboon & Wahlqvist, 2003).

O óleo de palma e os anticoagulantes não se podem tomar em concomitância, porque o óleo de palma aumenta a coagulação do sangue e a sua eficácia fica comprometida. O β -caroteno é um carotenóide que faz parte da composição química do óleo de palma e ao tomar o óleo em conjunto com este suplemento, pode fazer com que os níveis de β -caroteno disparem, o que leva a um maior risco de efeitos secundário, como o amarelamento das mãos e pés, diarreia, entre outros (NIH, 2016).

As atividades antimicrobianas do óleo de palma e dos extratos da *Elaeis guineensis* Jacq. Jacq serão analisadas em detalhe no capítulo 2.

1.3. Objetivo e metodologia

O objetivo desta monografia foi fazer uma pesquisa através de vários motores de busca e bases de dados, PubMed, B-on, Clinical trials.com, Cochrane library, para avaliar as atividades antimicrobianas dos óleos de palma e de oliveira. Foram pesquisadas revisões e meta-análises quando existentes.

Foram analisadas no Capítulo 2, em maior detalhe, as atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais e antiparasitárias dos óleos em ensaios *in vitro*, *in vivo* e em ensaios clínicos. No Capítulo 3 aborda-se a toxicidade, efeitos adversos e o potencial dos óleos como alimentos funcionais e dos seus componentes como nutracêuticos.

2. Atividade antimicrobiana do óleo de palma e de oliveira

2.1. Azeite

2.1.1. Atividade antibacteriana

2.1.1.1. Ensaio *in vitro*

A atividade antibacteriana do azeite foi avaliada numa série de bactérias e verificou-se que a concentração mínima inibitória (CMI) se situava entre 7.0-56.0 µg/ml para *Escherichia coli* e *Micrococcus luteus*, respetivamente. O azeite inibe o crescimento das bactérias testadas e esta atividade deve-se essencialmente à presença de metabolitos secundários como é o caso dos terpenos, flavonoides, esteroides, ácidos e esteres que foram identificados no azeite. Estes componentes são moléculas promissoras com potencial farmacológico e podem ser usados para fins terapêuticos. Estes compostos podem ser usados para tratar infeções bacterianas, pois não são tóxicos e têm menos efeitos secundários que os fármacos utilizados para o tratamento destas infeções (Upadhyay, 2014).

A atividade *in vitro* dos fenóis do azeite foi testada contra o *Helicobacter pylori*. Esta bactéria é responsável pela maioria das úlceras peptídicas e cancro gástrico. Os compostos fenólicos do azeite podem-se difundir para o suco gástrico e permanecerem estáveis durante horas no ambiente ácido do estômago. Estes compostos desempenham uma forte atividade bactericida, porém, o mecanismo de ação inerente a esta atividade é desconhecido. Os fenóis que constituem o azeite, podem ser potenciais agentes quimiopreventivos, no entanto esta atividade tem que ser testada *in vivo* (Romero, Medina, Vargas, Brenes, & De Castro, 2007).

Os fenóis presentes no azeite, nomeadamente a oleuropeína e o hidroxitirosol, foram avaliados para uma variedade de bactérias, como *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Salmonella typhi*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Staphylococcus aureus*. Os valores de CMI para a oleuropeína foi entre 31,25 e 250 µg/ml e para o hidroxitirosol entre 0,97 e 31,25 µg/ml. O hidroxitirosol mostrou ser mais eficaz que a oleuropeína. Os fenóis presentes no azeite apresentaram atividade antibacteriana para *Staphylococcus aureus*, sendo este uma bactéria que produz enterotoxinas e a sua resistência a compostos fenólicos naturais. O mecanismo de ação dos polifenóis mostra que os compostos

penetram nas membranas celulares, e estes provocam uma rutura do peptidoglicano ou danificam a membrana celular. O azeite pode ser um agente antimicrobiano para o tratamento de infeções bacterianas, porém, as características farmacocinéticas dos seus compostos fenólicos não estão totalmente esclarecidas, não podendo garantir que esta atividade continua *in vivo* (Bisignano et al., 1999).

A atividade da oleuropeína presente no azeite foi analisada para estripes do género *Mycoplasma* em diferentes concentrações e constatou-se que a CMI para *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma pirum*, *Mycoplasma hominis* e *Mycoplasma fermentans* foi de 360, 320, 20 e 20 mg/L, respetivamente. Apesar de alguns valores de CMI serem relativamente altos, a oleuropeína pode ser considerada como um medicamento natural com interesse na prevenção de infeções originados por *Mycoplasma*. No entanto não o concluir se este apresenta atividade contra o *Mycoplasma in vivo* (Furneri, Marino, Saija, Uccella, & Bisignano, 2002).

Tanto o extrato bruto polifenólico do azeite como o hidroxitirosol isolado demonstraram possuir atividade bactericida considerada forte e moderada para a *Listeria monocytogenes*. A comparação entre as CMI permite a hipótese de haver um efeito sinérgico de vários compostos fenólicos do azeite. Os polifenóis presentes no azeite podem ser utilizados como aditivos alimentares para prevenir a deterioração de alimentos e contaminação pela *Listeria monocytogenes* (Bubonja-Sonje, Giacometti, & Abram, 2011).

O mecanismo de ação, pelo qual os polifenóis inibem o crescimento da bactéria, ainda não está completamente esclarecido, no entanto, existem algumas hipóteses formuladas. Os compostos fenólicos podem causar atividade que podem danificar as membranas celulares das células ou podem intervir com a produção de aminoácidos que são necessários para o crescimento bacteriano (Bubonja-Sonje et al., 2011).

2.1.1.2. Ensaio clínico

O efeito de 30g de azeite virgem foi testado em 60 indivíduos infetados com *Helicobacter pylori*, porém, 13 doentes desistiram porque não suportavam o sabor do azeite ou tinham náuseas aquando da sua ingestão. O *H. pylori* foi erradicado na maior parte dos doentes, depois da toma do azeite evidenciando que administração de azeite virgem tinha eficácia na erradicação da bactéria. No entanto, são necessários mais estudos

e que estes, eventualmente, sejam realizados em doses necessárias para evitar náuseas (Castro *et al.*, 2012).

O *Staphylococcus aureus* é um dos agentes responsáveis pela dermatite atópica e encontra-se em 5% em pele normal e em 64%-100% em pele lesionada. O azeite virgem foi comparado com o óleo virgem de coco contra *Staphylococcus aureus*. Dos doentes tratados com óleo de coco, 20 obtiveram resultado positivo em relação a 12 doentes tratados com o azeite. Os dois óleos foram eficazes na dermatite atópica, porém o óleo de coco foi o que obteve melhores resultados, observando-se melhorias significativas após o tratamento, ao fim de 4 semanas (Verallo-Rowell, Dillague, & Syah-Tjundawan, 2008).

A atividade de uma mistura à base de azeite, cera de abelha e mel foi estudada na dermatite atópica e na psoríase, em 39 pacientes. Destes, 10 tinham dermatite atópica e 8 apresentaram melhorias significativas após 2 semanas. Dos 8 pacientes com psoríase, 5 apresentavam uma resposta significativa a esta mistura. A atividade encontrada para as lesões da pele, pode justificar a sua utilização como agente para o tratamento da dermatite atópica e da psoríase. O mecanismo dos efeitos terapêuticos da mistura do azeite, cera de abelhas e mel pode ser atribuída à redução da síntese da prostaglandina no local, onde a mistura é aplicada, e o aumento de óxido nítrico nas lesões, a inibição de fungos ou crescimento bacteriano, a inibição do leucotrieno B4 e as atividades antioxidantes e anti inflamatórias (Al-Waili, 2003).

2.1.1.3.Extratos de folhas da oliveira

A atividade antimicrobial de um extrato comercial de folhas de oliveira foi testada contra uma vasta gama de microrganismos patogénicos. O extrato demonstrou atividade contra *Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni* e *Staphylococcus aureus* incluindo *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA) com CMI muito baixas. Os restantes microrganismos testados não eram tão suscetíveis ao extrato. O extrato das folhas da oliveira não apresentam grande espetro de ação, logo não é considerado uma terapêutica eficaz para uma vasta gama de doenças infecciosas. Os dados sugerem que o extrato tem um papel fundamental na modificação da composição da flora gástrica através da redução das bactérias testadas (Sudjana *et al.*, 2009).

O extrato aquoso das folhas da oliveira foi avaliado em *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e

Bacillus cereus. Os resultados demonstraram que o extrato possui uma forte atividade inibitória em relação a *E. coli* e *S.aureus* em comparação com os restantes microrganismos patogênicos. Os extratos efetuados com acetato de etilo, acetona, metanol e butanol das folhas da oliveira foram testados contra *E. coli*, *Enterococcus* sp., *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium* e os resultados obtidos mostraram que o efeito inibitório era superior para *Escherichia coli* e *Bacillus cereus*. Todos os extratos avaliados apresentaram ação inibitória contra as bactérias patogênicas testadas (Salem et al., 2015). Verificaram também a atividade do extrato aquoso da folha da oliveira para estas bactérias que se demonstrou muito eficaz em baixa concentração (Markin, Duek, & Berdicevsky, 2003).

Os compostos fenólicos das folhas da oliveira e os seus extratos foram avaliados em relação à atividade antibacteriana. Em relação aos compostos fenólicos verificou-se que o ácido hidroxibenzóico mostrou ter atividade antibacteriana para *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, o ácido vanílico tem atividade contra *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*. O tirosol e o ácido cafeico têm atividade para *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* e a oleuropeína tem atividade antibacteriana para *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. Em relação aos extratos verificou-se que o extrato aquoso não teve qualquer efeito antibacteriano, porém o extrato de acetona inibiu o crescimento de *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. Os extratos, exceto o aquoso, são potentes inibidores do crescimento das bactérias testadas, em especial o extrato de acetona, pois foi aquele que teve um efeito inibitório num maior número de bactérias. Os extratos podem ser usados como agentes antibacterianos para as indústrias farmacológicas e alimentares (Korukluoglu, Sahan, Yigit, Ozer, & Gücer, 2010).

2.1.2. Atividade antifúngica

2.1.2.1. Ensaios in vitro

A atividade antifúngica do azeite e do óleo de canela contra *Candida*, presentes na corrente sanguínea (candidemia), foi avaliada em 1376 pacientes. A taxa de isolamento de *Candida* sp de 7,25%, dos quais 43% correspondiam a *Candida tropicalis*, 41% a *Candida albicans*, 9% a *Candida krusei* e 7% a *Candida parapsilosis*. Os isolados de

Candida foram submetidos a testes de suscetibilidade antifúngica (Tabela 10) (Goel, Rohilla, Singh, & Punia, 2016).

Tabela 10: Resistência antifúngica contra o fluconazol, voriconazol, azeite e óleo de canela entre as várias espécies de *Candida* (adaptado de Goel et al., 2016)

Fármacos	<i>Candida albicans</i> (n=41)	<i>Candida tropicalis</i> (n=43)	<i>Candida krusei</i> (n=9)	<i>Candida parapsilosis</i> (n=7)
Fluconazol	6 (14,6%)	13 (30,3%)	9 (100%)	1 (14,3%)
Voriconazol	0	0	0	0
Azeite	17 (41,46%)	22 (51,16%)	4 (44,44%)	3 (42,85%)
Óleo de canela	16 (39,02%)	21(48,83%)	5(55,55%)	3(42,85%)

A sensibilidade ao fluconazol é de 85,7% para a *Candida parapsilosis*, 85,3% para *Candida albicans* e 67,4% para a *Candida tropicalis* e todas as espécies eram sensíveis ao voriconazol. Em relação aos óleos observou-se que 57,12% da *Candida parapsilosis*, 55,55% da *Candida krusei*, 53,5% da *Candida albicans* e 48,83% da *Candida tropicalis* eram sensíveis ao azeite, e 58,83% da *Candida albicans*, 57,12% da *Candida parapsilosis*, 46,51% da *Candida tropicalis* e 44,45% da *Candida krusei* eram sensíveis ao óleo de canela. Estes dados sugerem que a resistência ao fluconazol nas candidas não albicans eleva-se com uma das principais causas de candidemia e os óleos testados exibiram uma boa sensibilidade contra todas as espécies de *Candida* (Goel et al., 2016).

O efeito do azeite ozonizado foi testado contra *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium canis* e *Trichophyton rubrum*. A reação do ozono com o azeite processa-se através de ligações duplas carbono-carbono, presentes nos ácidos gordos insaturados que geram produtos tóxicos como aldeídos, peróxidos, compostos oxigenados, entre outros. O azeite ozonizado mostrou ter atividade antimicrobiana com uma CMI entre 0,53 e 2 mg/ml. A *Candida albicans*, a *Microsporium canis* e *Trichophyton rubrum* foram os mais suscetíveis ao azeite ozonizado. Este tem muitas atividades, o que faz dele um agente antimicrobiano competitivo e pode prevenir problemas como efeitos adversos e/ou resistências (Geweely, 2006).

A atividade antifúngica do azeite foi analisada e verificou-se que a CMI variou entre 7 µg/ml para *Candida albicans* e 28 µg/ml para *Aspergillus niger*. A concentração fungicida mínima ocorreu para a *Candida albicans*, o que traduz maior eficácia neste caso. Compostos como terpenos, flavonoides, esteroides, ácidos e ésteres foram

identificados no azeite e devidas as estas substâncias o azeite pode ser utilizado para fins terapêuticos (Upadhyay, 2014).

2.1.2.2. Ensaio clínico

A ação do azeite, com mel e cera de abelhas foi determinada em infecções fúngicas da pele de 37 pacientes e constatou-se que 86% dos pacientes com *pitíriase versicolor* apresentavam melhorias, assim como 79% com *Tinea cruris* e 75% com *Tinea corporis*. A cura verifica-se em 79% dos pacientes com *Pitíriase versicolor*, bem como 71% com *Tinea cruris* e 62% com *Tinea corporis*. Ainda se avaliou um paciente com *Tinea faciei* e este manifestou melhoria ao fim de 3 semanas após o início do tratamento (Tabela 11) (Al-Waili, 2004).

Tabela 11: Efeito do azeite em infecções fúngicas realizadas em ensaios clínicos (adaptado de Al-Waili, 2004)

Tipos de infecção	Número de pacientes	Resposta clínica	Cura completa
<i>Pitíriase versicolor</i>	14	12 (86%)	11 (79%)
<i>Tinea cruris</i>	14	11 (79%)	10 (71%)
<i>Tinea corporis</i>	8	6 (75%)	5 (62%)

A mistura de azeite, mel e cera de abelhas não provocou efeitos adversos e foi bem tolerada pelos pacientes, obtendo-se uma melhoria significativa das lesões, e este fato pode levar a mais investigações tanto *in vitro* como *in vivo* (Al-Waili, 2004).

2.1.2.3. Extratos de folhas da oliveira

O extrato aquoso das folhas da oliveira foi testado contra a *Candida albicans* e alguns dermatófitos como *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* e *Microsporum canis*, tendo-se constatado que os dermatófitos foram inibidos quando expostos a uma concentração baixa do extrato aquoso ao fim de 3 dias e a *Candida albicans* foi destruída ao fim de 24h. O extrato foi eficaz contra uma vários fungos *in vitro*, sendo necessários estudos *in vivo* futuros para saber se este agente pode ser aplicado como um fármaco antimicrobiano (Markin et al., 2003).

Os compostos fenólicos presentes na *Olea europaea* L. var. Picual foram analisados nas raízes e caules da oliveira e investigou-se qual a sua influência no crescimento, morfologia e ultra-estrutura dos fungos *Phytophthora megasperma* e *Cylindrocarpon destructans*. A atividade fungicida foi testada *in vitro* e o composto mais ativo foi a

quercetina e a luteolina, logo depois a rutina, oleuropeína, tirosol, entre outros. Na análise microscópica verificou-se que os compostos fenólicos influenciavam o crescimento, morfologia e ultra-estrutura de ambos os fungos. Os resultados sugerem que os compostos fenólicos presentes na oliveira exercem um papel importante na proteção contra os microrganismos patogênicos testados (Báidez, Gómez, Del Río, & Ortuño, 2006).

2.1.3. Atividade antiviral

2.1.3.1. Ensaio *in vitro*

A atividade da oleuropeína e de um extrato comercial da folha da oliveira foram analisados contra o vírus da septicemia hemorrágica viral. Para se verificar se os compostos a testar eram um potencial agente viral, testou-se numa primeira fase a toxicidade aguda e crônica em diferentes concentrações (1 a 1450 µg/ml) e aferiu-se que nenhum dos compostos era tóxico em concentrações inferiores a 1 mg/ml para o extrato de oliveira e de 0,6 mg/ml para a oleuropeína. Quando o vírus foi adicionado nas células os componentes conseguiram reduzir a infecção. O extrato de oliveira não apresenta toxicidade nas concentrações acima referidas e tem um impacto positivo no que diz respeito à redução da infecção, logo pode ser utilizado como um antiviral natural, sem apresentar consequências na saúde nem no meio ambiente (Micol *et al.*, 2005).

2.1.3.2. Extratos de folhas da oliveira

O extrato hidroalcoólico da folha da oliveira foi analisado para o herpes simples tipo 1 (HSV-1). Este extrato revelou um efeito virucida em concentrações superiores a 1 mg/ml e o seu efeito foi devido a oleuropeína, ácido olenólico e hidroxitirosol. Este extrato pode ser considerado uma nova opção para o tratamento de HSV-1 em ensaios clínicos (Motamedifar, Nekooeian, & Moatari, 2007).

A atividade antiviral do extrato aquoso da folha de oliveira foi estudada contra a infecção do HIV-1 e a sua replicação. O vírus foi inserido numa linhagem celular H9 e para a sua replicação utilizou-se o antígeno p24, que é uma proteína está presente no HIV. O componente em maior quantidade no extrato era a oleuropeína. O extrato inibiu a infecção aguda e a transmissão de célula para célula do HIV-1, como também a replicação do vírus. Os efeitos são dose-dependente, apresentavam um IC₅₀ de 0,2 µg/ml, o intervalo da dose eficaz não apresentavam toxicidade nas células alvo não infetadas e tinham um índice terapêutico superior a 5000. Os resultados indicam que os genes que

estão implicados na sobrevivência, *stress*, apoptose, proteína quinase C, via de sinalização de Hedgehog, citocinas são modulados na infecção pelo HIV-1 e do tratamento com o extrato. O HIV-1 aumentou os níveis de expressão de proteínas de choque térmico, como a hsp27 e hsp90, as proteínas da via de sinalização Hedgehog, a proteína Mdm2 que se liga a p53, e diminui os níveis de expressão da atividade antiapoptótica do gene Bcl 2 associada à proteína X. O tratamento com o extrato consegue inverter estas alterações e tem consequências ao nível da expressão de algumas proteínas, como o hsp27, hsp90, Mdm2, entre outros. Os compostos fenólicos, como o caso da oleuropeína, que se encontram na folha da oliveira, são absorvidos no trato gastrointestinal o que leva a níveis significativos na circulação, e para além disso são metabolizados, sendo que a oleuropeína é convertida em D-elenato. É importante saber se o extrato utilizado tem ação sinérgica com os medicamentos antirretrovirais para se incluir este extrato nos regimes de tratamento (Lee-Huang, Zhang, Huang, Chang, & Huang, 2003).

2.1.4. Atividade antiparasitária

2.1.4.1. Ensaio *in vitro*

A leishmaniose é um grupo de infeções que são causadas por diferentes espécies de parasitas que pertencem ao género *Leishmania* e para o seu tratamento utiliza-se o Glucantime®, ou seja antimoniato de meglumina. Foi efetuada uma experiência com azeite ozonizado para testar o seu potencial na leishmaniose. À medida que a concentração de azeite ozonizado e do Glucantime® aumentava existia um decréscimo na sobrevivência dos parasitas, porém o azeite ozonizado tinha uma maior atividade em relação ao Glucantime®. A IC₅₀ do Glucantime® e do azeite ozonizado foi de 165 mg/ml e de 0,002mg/ml, respetivamente, o que traduz maior eficácia do azeite ozonizado. O mecanismo que explica como o ozono reduz o número de parasitas ainda não foi totalmente esclarecido, porém pensa-se que o poder oxidante do ozono leva à destruição da parede celular e da membrana citoplasmática. O azeite ozonizado mostrou ter atividade *in vitro* e o seu efeito é dose-dependente (Rajabi, Sazgarnia, Abbasi, & Layegh, 2015).

Os ácidos terpénicos presentes no azeite foram isolados e testou-se a sua atividade *in vitro* dos parasitas *Leishmania infantum* e *Leishmania amazonensis*. O ácido maslínico demonstrou uma maior atividade em comparação com o ácido oleanólico, obtendo-se um IC₅₀ de 9,32 µg/ml e 12,460µg/ml para *L. infantum* e *L. amazonensis*, respetivamente. O mecanismo de ação foi investigado através do reconhecimento de mudanças na exposição

da fosfatidilserina, a permeabilidade da membrana plasmática, o potencial da membrana mitocondrial e os níveis de ATP nos parasitas tratados. Os ácidos terpénicos reduziram os níveis de ATP que decresceram em 15%. De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que os ácidos terpénicos podem ser usados na luta contra a leishmaniose, porém são necessários mais estudos para sustentar esta afirmação (Sifaoui et al., 2014).

2.1.4.2. Ensaio *in vivo* em animais

A atividade do ácido maslínico presente na folha de oliveira foi avaliada *in vivo* contra a infecção do *Gallus domesticus* com *Eimeria tenella* e um outro grupo foi tratado com salinomicina. O número de parasitas reduziu quando se tratou os animais com este ácido. Este revelou-se eficaz pois reduziu o parasitismo por *Eimeria tenella*, como também aumentou o peso dos animais tratados, sendo que este aumento de peso se deve à redução de parasitas e não derivado da alimentação, sendo que a quantidade de alimento foi igual no grupo tratado com ácido maslínico e com salinomicina (De Pablos *et al.*, 2010).

2.2. Óleo de palma

O óleo de palma é uma fonte de ácidos gordos com atividade antimicrobiana, entre os ácidos gordos insaturados mais ativos salienta-se o ácido linoleico mas que só que existe na concentração de 10,2% (Parfene, Horincar, & Bahrim, 2011).

A atividade antimicrobiana dos ácidos gordos é influenciada pelo tamanho da cadeia e suas insaturações. Entre os ácidos gordos saturados com atividade para organismos Gram positivos o ácido palmítico, que predomina no óleo de palma (cerca de 43,5%) é o menos ativo sendo também menos ativo do que os ácidos gordos insaturados (Silalahi, Manurung, & Sitompul, 2014).

Não se encontrando grande atividade antimicrobiana neste óleo, e sendo encontrados muitos estudos sobre os extratos de folhas desta planta, concluindo-se assim que a maioria dos compostos com atividade antimicrobiana serão hidrofílicos ou não se encontram no fruto, efetuou-se também o estudo mais detalhado destes extratos.

2.2.1. Atividade antibacteriana das folhas da *Elaeis guineensis*

2.2.1.1. Ensaio *in vitro*

O extrato metanólico efetuado nas folhas da *Elaeis guineensis* Jacq. foi avaliado em bactérias Gram positivas e Gram negativas, tendo-se demonstrado mais eficaz nas bactérias Gram + do que nas Gram -, pois estas têm uma membrana em torno da parede que limita a difusão de compostos hidrófobos e as Gram + como não possuem essa membrana absorvem mais facilmente os compostos. A CMI variou entre 6,25mg/ml, para *Bacillus subtilis* e 50 mg/ml para *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae*. Este extrato exibe atividade antimicrobiana contra as bactérias testadas, apesar de ser mais efetivo nas bactérias Gram + (Vijayarathna *et al.*, 2012).

O extrato metanólico efetuado a partir de folhas de *Elaeis guineensis* Jacq. apresenta atividade antimicrobiana para *Staphylococcus aureus*. Os halos de inibição e, média tinham um diâmetro de 14mm, o controlo negativo metanol não apresentou crescimento e o controlo positivo, o antibiótico cloranfenicol, apresentou um diâmetro de 24.67 mm, que sugere que o extrato apresentava menor atividade. O extrato metanólico apresentou atividade antimicrobiana para *Staphylococcus aureus*, sendo o seu efeito dose-dependente e apresentava CMI de 6.25 mg/ml. Este extrato possui atividade antimicrobiana elevada para *Staphylococcus aureus*. O extrato pode ser utilizado para curar feridas com infeções por este microrganismo e ajudar na cicatrização, especialmente em locais onde não existem cuidados de saúde primários. Porém, ainda são necessários mais estudos para esclarecimento do seu modo de ação (Rajoo *et al.*, 2013).

Os compostos fenólicos da folha da *Elaeis guineensis* Jacq. foram analisados quantitativamente e qualitativamente para *Bacillus cereus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. A análise qualitativa detetou flavonoides e taninos. O composto que estava em maior quantidade, era os flavonoides que foi verificado através da análise quantitativa. Para testar a atividade antibacteriana do extrato metanólico foram isoladas quatro bactérias que apresentavam halos de inibição entre os 7,7mm e os 11,3 mm, o que sugere que o extrato tem grande atividade antibacteriana, dado que bactérias com halo igual ou superior a 7mm eram sensíveis ao extrato testado. A atividade antioxidante do extrato, foi avaliada pelo método DPPH, e obteve-se um IC50 de 0.646 mg/ml. Os compostos fenólicos analisados ao longo do estudo são responsáveis

pelas atividades biológicas e demonstraram que o extrato metanólico tem atividade antioxidante e antibacteriana contra os microrganismos testados (Yin *et al.*, 2013).

Os extratos metanólico e de clorofórmio das folhas da *Elaeis guineensis* Jacq. foram testados *in vitro* contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Os resultados demonstraram que os extratos analisados possuíam uma elevada toxicidade contra as bactérias testadas, porém, são mais eficientes contra bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) do que em bactérias Gram negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*). De acordo com a triagem fitoquímica constatou-se que os extratos tinham terpenos, taninos e saponinas e estes componentes têm capacidade antibacteriana para as bactérias testadas e podem permitir desenvolver produtos para o tratamento de infecções bacterianas. Apesar de tudo, são necessários mais estudos toxicológicos e farmacológicos para confirmar a eficácia das folhas *Elaeis guineensis*, no que toca ao tratamento de infecções bacterianas (Aziz, Halim, & Abdullah, 2015).

2.2.1.2. Ensaio *in vivo* em animais

As feridas da pele podem ser devidas ao *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Aziz *et al.*, 2015). Os efeitos da folha da *Elaeis guineensis* Jacq. foram investigados na cicatrização de feridas em ratos. Os extratos metanólicos revelaram a presença de taninos, esteroides, alcaloides, flavonoides, terpenos, saponinas e açúcares redutores. A partir do dia 4 verificou-se uma diferença significativa no fecho da ferida e esta ficou completamente curada com os extratos da folha da *Elaeis guineensis* Jacq. no dia 16 (figura 8) (Sasidharan, Nilawaty, Xavier, Latha, & Amala, 2010).

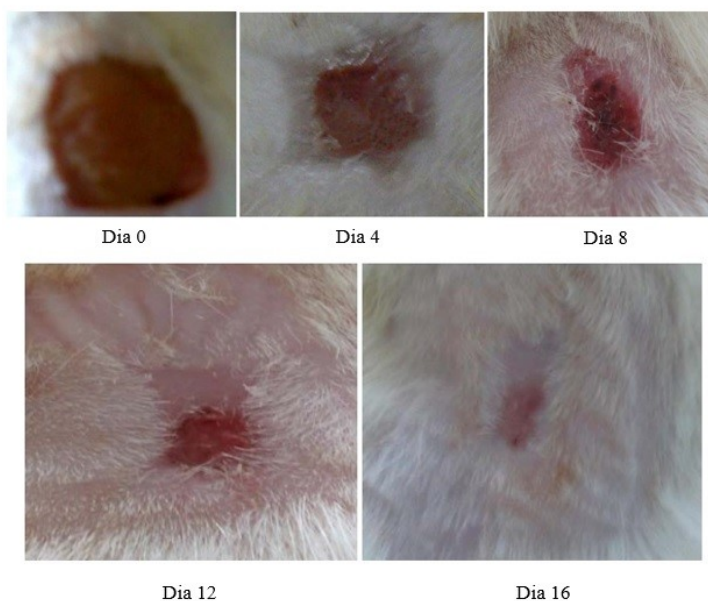


Figura 8. Representação fotográfica da evolução da cicatrização ao longo dos dias de tratamento (adaptado de Sasidharan *et al.*, 2010)

O extrato metanólico da folha da *Elaeis guineensis* Jacq. ajudou na cicatrização de feridas, pois diminui o risco de infecção e torna a cicatrização mais rápida (Sasidharan et al., 2010).

2.2.2. Atividade antifúngica das folhas da *Elaeis guineensis*

2.2.2.1. Ensaaios *in vivo*

A atividade antifúngica do extrato metanólico da folha da *Elaeis guineensis* foi avaliada em ratos durante 1 semana. A *Candida albicans* foi inoculada nos animais e constatou-se que o extrato metanólico reduziu a mortalidade dos ratos. Pode-se utilizar o extrato de metanólico, como um bom aspirante para o desenvolvimento de um agente contra a *Candida albicans* (Vijayarathna et al., 2012).

2.2.3. Atividade antiviral

2.2.3.1. Ensaaios *in vitro*

O óleo de palma não tem ensaios *in vitro*, relacionados com vírus. No entanto, existe uma espécie de palmeira, a tamareira (*Phoenix dactylifera* L.), onde foi avaliada a sua atividade antiviral no extrato de acetona. A célula hospedeira, onde o vírus foi incubado, foi a *Pseudomonas aeruginosa*. O extrato apresenta atividade antiviral com uma CMI de $<10\mu\text{g/ml}$, logo tem uma forte capacidade de inibição do fago, sendo que o seu efeito é dose-dependente. Foi demonstrado que o extrato de acetona tem atividade antiviral, e pode ser utilizado como um novo agente antiviral contra vírus humanos patogênicos, como o caso do HIV (Jassim & Naji, 2010).

2.2.4. Atividade antiparasitária

2.2.4.1. Ensaaios *in vivo em animais*

Bianchi et al. (2014) ensaiaram uma dieta com óleo de palma para verificar a sua interferência na resposta imune em ovinos de leite no número de ovos por grama de fezes de nematoides gastrointestinais. O ensaio foi realizado em 30 ovinos, que foram divididos em 3 grupos, adotando uma dieta com diferentes teores de óleo de palma. Não se verificam diferenças nas percentagens dos nematodes gastrointestinais (*Haemonchus sp.* e *Trichostrongylus sp.*) entre os grupos nos dias 0 e 60. Porém, no dia 120 já se observaram diferenças significativas entre o grupo controlo, que não tinha óleo de palma na sua dieta e os outros grupos (Figura 9) (Bianchi et al., 2014).

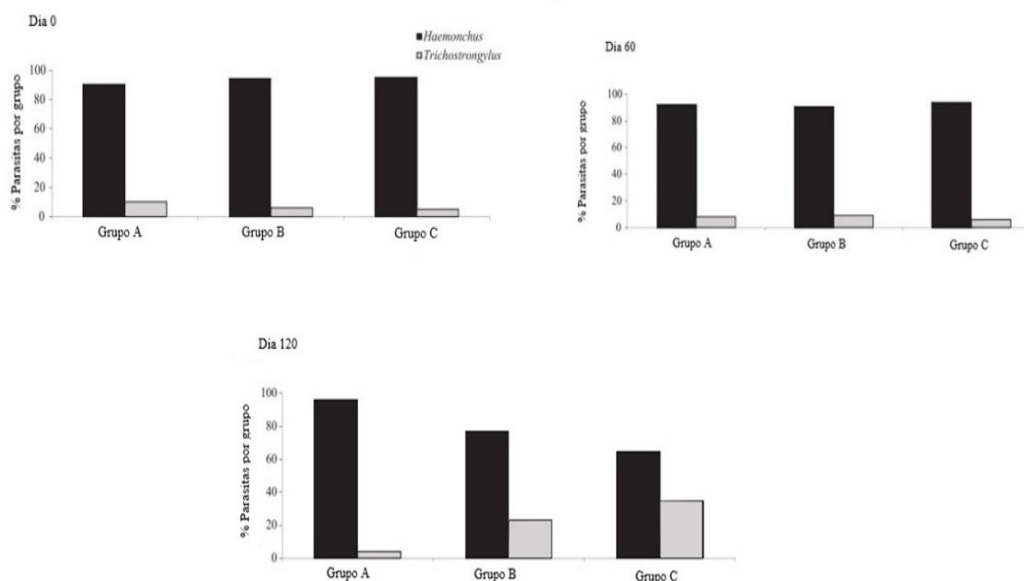


Figura 9. Percentagem de parasitas observadas nas fezes dos grupos A,B,C no dia 0, no dia 60 e no dia 120 (adaptado Bianchi et al., 2014)

As imunoglobulinas e citocinas pró-inflamatórias aumentaram nos dias 60 e 120, em comparação com o grupo controlo. Os autores concluíram que o óleo de palma fomenta a resposta imune do hospedeiro, reduzindo os ovos de parasitas por grama de fezes e aumentando os níveis séricos de imunoglobulinas e citocinas. O óleo de palma necessita de mais estudos para se concluir acerca da sua atividade antiparasitária (Bianchi et al., 2014).

2.3.Comparação potencial antimicrobiana

A nível bacteriano verificou-se que tanto o óleo de palma como o azeite têm atividade antibacteriana contra o *Staphylococcus aureus*, tendo ambos mais afinidade para bactérias Gram + (Rajoo et al., 2013; Sudjana et al., 2009). Ambos os óleos têm atividade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Escherichia coli* (Upadhyay, 2014; Yin et al., 2013). No entanto, o azeite ainda tem ação antibacteriana contra o género *Mycoplasma* (Furneri et al., 2002), *H. pylori* (Romero et al., 2007) e *Campylobacter jejuni* (Sudjana et al., 2009), entre outras bactérias.

Tanto o azeite como o óleo de palma têm efeito antifúngico contra *Candida albicans* (Markin et al., 2003; Vijayarathna et al., 2012). O azeite ainda tem efeito contra dermatófitos (Markin et al., 2003), *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium canis* e *Trichophyton rubrum* (Geweely,

2006). Este ainda é eficaz contra infecções fúngicas da pele como *Tinea cruris*, *Tinea corporis* e *Pitiríase versicolor* (Al-Waili, 2004).

O azeite tem atividade antiviral contra vírus da septicemia hemorrágica viral (Micol et al., 2005), contra o HSV-1 (Motamedifar et al., 2007) e HIV (Lee-Huang et al., 2003). Na pesquisa efetuada não se encontraram estudos com vírus.

O azeite demonstrou ter efeito contra os parasitas que causam a leishmaniose (Rajabi et al., 2015; Sifaoui et al., 2014) e contra *Eimeria tenella* (De Pablos et al., 2010). O óleo de palma tem efeito antiparasitário contra *Haemonchus sp.* e *Trichostrongylus sp.* (Bianchi et al., 2014).

3. Utilização alimentar

O termo nutracêutico refere-se aos compostos bioativos que se encontram nos alimentos, nos suplementos alimentares e nos produtos à base de plantas e que têm como função promover a saúde, prevenir a doença e possuem propriedades medicinais (Accardi *et al.*, 2016).

3.1. Azeite

O azeite tem um potencial nutracêutico devido ao ácido oleico, compostos fenólicos, esqualeno, tocoferóis e álcoois alifáticos (Castro *et al.*, 2012). Para se avaliar o interesse como fonte nutracêutica das azeitonas verdes *Nocellara del Belice*, foi realizado um ensaio em que se avaliava os parâmetros clínicos e biológicos em 25 indivíduos saudáveis durante 30 dias. Ao fim do tempo de tratamento, avaliaram-se as medidas antropométricas e verificou-se que a massa gorda diminuía, à medida que a massa muscular aumentava, o que foi atribuído ao ácido linoleico conjugado (CLA) presente nas azeitonas (Accardi *et al.*, 2016).

Quantificaram-se as citocinas pró e anti-inflamatórias e observou-se que a interleucina 6 teve uma redução nos seus níveis, o que sugere que as azeitonas têm um efeito anti-inflamatório. O malondialdeído é uma molécula que está envolvida no *stress* oxidativo, foi avaliado nos indivíduos tendo demonstrado que os seus níveis diminuía, o que leva a crer que as azeitonas verdes têm um efeito antioxidante. Analisou-se as fezes dos voluntários deste estudo, para investigar se havia variação da concentração de lactobacilos após o consumo de azeitonas, e verificou-se que não houve grandes alterações antes e no fim do tratamento. Os resultados sugerem que o consumo diário de azeitonas verdes fornecem compostos nutracêuticos (Accardi *et al.*, 2016).

3.2. Óleo de palma

O óleo de palma tem componentes fitoquímicos com atividade biológica que o tornam uma fonte para a produção de nutracêuticos (Che Idris *et al.*, 2014), como o caso dos carotenos, tocoferóis e tocotrienóis, esqualeno, ácidos fenólicos e flavonoides (Tan *et al.*, 2007).

O óleo de palma foi modificado com ácido eicosapentaenóico (EPA) para se obter propriedades nutracêuticas anti-inflamatórias, utilizando ácidos gordos polinsaturados n-

3 e recorreu-se a um sistema modelo *in vitro* de células de condrócitos para reproduzir as vias degenerativa e inflamatória que existem na artrite. Uma fração de oleína de palma foi adulterada, por transesterificação, com os ácidos gordos polinsaturados n-3, α - ácido linoleico ou EPA. Por estimulação de culturas com a interleucina 1- α , verificou-se que houve um acréscimo da expressão da ciclooxigenase 2, da TNF- α , IL-1 α , IL-1 β e da proteinase ADAMTS-4. Os resultados fortalecem a informação de dados epidemiológicos e clínicos que são benéficos para o uso de ácidos gordos polinsaturados n-3, na dieta, para o tratamento da inflamação e da dor na artrite. Para além disso, é possível modificar o óleo de palma para produzir um nutracêutico com características anti-inflamatórias eficientes (Zainal *et al.*, 2009).

3.3.Toxicidade/Efeitos adversos

3.3.1. Azeite

A toxicidade dos compostos fenólicos do azeite foi avaliada *in vitro* em linhas celulares derivadas de tecidos da cavidade oral, como fibroblastos, células epiteliais gengivais não tumorogénicas e células cancerígenas da glândula salivar. Não se observaram diferenças nas sensibilidades relativas dos compostos fenólicos nas células e a citotoxicidade foi aumentando, sendo que o composto que tem menor citotoxicidade é a oleuropeína e o maior o tirosol. A citotoxicidade foi verificada só em níveis muito superiores ao consumo habitual, não havendo assim risco de se sofrer toxicidade com os compostos fenólicos do azeite. Estes compostos estando presentes em altas concentrações, não tem efeitos citotóxicos em células da cavidade oral (Babich & Visioli, 2003).

O perfil de segurança do ácido maslínico foi avaliado *in vivo* por administração oral de doses elevadas deste componente em ratos. Uma única administração oral de 1000mg/kg nos ratos, não causou efeitos adversos e após a administração de 50 mg/kg durante 28 dias não houve sintomas de toxicidade. O ácido maslínico não tem efeitos secundários nos ratos, o que leva a uma margem de segurança suficiente para a sua utilização como nutracêutico (Sánchez-González, Lozano-Mena, Juan, García-Granados, & Planas, 2013).

3.3.2. Óleo de palma

A toxicidade aguda oral do extrato metanólico das folhas da *Elaeis guineensis* Jacq. foi avaliada em animais, verificando-se que nenhum dos animais morreu na dose

superior, nem demonstrou qualquer efeito adverso, o que leva a crer que o extrato não é tóxico. Os resultados obtidos garantem que o extrato metanólico da *Elaeis guineensis* Jacq. não é tóxico, nem letal na dose usada e pode ser comercializado (Syahmi *et al.*, 2010).

O extrato etanólico das folhas da *Elaeis guineensis* Jacq. não apresentaram toxicidade a 2g/kg em ratos. No entanto, parece ser tóxico para uma concentração de 5g/kg após 7 dias de administração. Ao fim de 14 dias, os índices de toxicidade foram invertidos (Anyanji, Mohamed, Zokti, & Ado, 2013).

4. Conclusão

O azeite é um bom agente antibacteriano e tem atividade sobre uma série de bactérias. Os compostos fenólicos que existem no azeite, exercem a sua atividade *in vitro* contra *Helicobacter pylori*, e *in vivo* tendo sido demonstrada num ensaio clínico que o consumo de azeite erradicou o *H.pylori*. A oleuropeína é um composto fenólico que exibiu atividade contra o género *Mycoplasma* demonstrando a eficácia do azeite. O azeite devido aos terpenos, flavonoides, esteroides, ácidos e esteres, exibiu efeito antibacteriano contra *Escherichia coli* e *Micrococcus luteus*.

Os extratos obtidos a partir da folha da oliveira demonstraram igualmente atividade antibacteriana para bactérias como, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni* e *Staphylococcus aureus*. O extrato aquoso é eficaz para *E. coli* e *S.aureus*. O extrato de acetona das folhas apresentou atividade antibacteriana para *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, ao contrário do extrato aquoso. Os extratos das folhas da oliveira podem vir a ser usados como eventuais agentes antibacterianos para as indústrias farmacológicas e alimentares.

O azeite demonstrou ter atividade antifúngica contra *Candida albicans* e *Aspergillus niger*. O extrato aquoso mostrou ser eficaz contra dermatófitos e contra *Candida albicans*, no entanto são necessários estudos *in vivo* para saber se pode ser aplicado como fármaco antimicrobiano. O azeite ozonizado exerceu a sua ação antimicrobiana contra *Candida albicans*, *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum*. O azeite, em conjunto com mel e cera de abelhas, demonstrou efeito em infeções fúngicas da pele, como *Pitiríase versicolor*, *Tinea cruris* e *Tinea corporis*. Os compostos fenólicos têm atividade fungicida contra *Phytophthora megasperma* e *Cylindrocarpon destructans*.

A oleuropeína presente no azeite tem atividade antiviral no vírus da septicemia hemorrágica viral. O extrato hidroalcoólico das folhas da oliveira revelou efeito virucida contra o HSV- e o extrato aquoso teve efeito no HIV.

O azeite ozonizado reduziu o número de parasitas que pertencem ao género *Leishmania*. Para além disto, os ácidos terpénicos exibiram a sua atividade contra os parasitas *Leishmania infantum* e *Leishmania amazonensis*. O ácido maslínico reduziu os parasitas *Eimeria tenella* em aves.

Foi também avaliado o extrato metanólico da *Elaeis guineensis* Jacq. e este mostrou ser mais eficaz em bactérias Gram +, como o *Staphylococcus aureus*. No entanto, este extrato demonstrou ser activo contra *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Um ensaio *in vivo* em ratos, concluiu que o extrato metanólico, em que foram identificados taninos, esteroides, alcaloides, flavonoides, terpenos, saponinas e açúcares redutores, tinha efeito na cicatrização de feridas causadas por bactérias.

Os compostos fenólicos, nomeadamente os flavonoides, presentes na folha da *E. guineensis*, exibiram atividade antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

O extrato metanólico da folha da *Elaeis guineensis* tem atividade antifúngica contra *Candida albicans*, pois diminuiu a mortalidade dos ratos infetados com o fungo. O óleo de palma reduziu o número de parasitas nematoides gastrointestinais em ovinos de leite.

As folhas da palmeira e o azeite, têm uma grande variedade de atividades conhecidas ao nível de microrganismos patogénicos, mostrando a sua eficácia ao inibir diferentes espécies. Há falta de ensaios clínicos para saber se os compostos presentes nos extractos e os óleos, com as suas propriedades, podem ser utilizados em humanos de forma segura. Ao nível bacteriano há uma panóplia de ensaios *in vitro*, porém, ao nível dos vírus e parasitas não há muitos ensaios tanto *in vitro* como *in vivo*. O azeite é o óleo que se efetuou mais ensaios, dado que é o óleo que é mais conhecido e mais utilizado a nível mundial.

De acordo com alguns autores os óleos de palma e de oliveira podem funcionar como nutracêuticos na alimentação. A composição do óleo de palma foi modificada com a adição de EPA com características anti-inflamatórias superiores, podendo funcionar como alimento funcional.

Os óleos de palma e de oliveira não apresentam efeitos secundários, nem toxicidade nas doses que foram usadas ao longo dos estudos apresentados. As doses utilizadas nos estudos foram maiores do que as consumidas diariamente, logo não há risco de toxicidade para os humanos em doses normais.

5. Referências bibliográficas

- Accardi, G., Aiello, A., Gargano, V., Gambino, C. M., Caracappa, S., Marineo, S., ... Candore, G. (2016). Nutraceutical effects of table green olives: a pilot study with Nocellara del Belice olives. *Immunity & Ageing*, *13*, 11. <http://doi.org/10.1186/s12979-016-0067-y>
- Adewale, O. F., Isaac, O. O., Tunmise, M. T., & Omoniyi, O. O. (2016). Palm oil and ground nut oil supplementation effects on blood glucose and antioxidant status in alloxan-induced diabetic rats. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *29*(1), 83–87.
- Alagna, F., Mariotti, R., Panara, F., Caporali, S., Urbani, S., Veneziani, G., ... Baldoni, L. (2012). Olive phenolic compounds: metabolic and transcriptional profiling during fruit development. *BMC Plant Biology*, *12*, 162. <http://doi.org/10.1186/1471-2229-12-162>
- Al-Otoom, A., Al-Asheh, S., Allawzi, M., Mahshi, K., Alzenati, N., Banat, B., & Alnimr, B. (2014). Extraction of oil from uncrushed olives using supercritical fluid extraction method. *The Journal of Supercritical Fluids*, *95*, 512–518. <http://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.10.023>
- Al-Waili, N. S. (2003). Topical application of natural honey, beeswax and olive oil mixture for atopic dermatitis or psoriasis: partially controlled, single-blinded study. *Complementary Therapies in Medicine*, *11*(4), 226–234. [http://doi.org/10.1016/S0965-2299\(03\)00120-1](http://doi.org/10.1016/S0965-2299(03)00120-1)
- Al-Waili, N. S. (2004). An alternative treatment for pityriasis versicolor, tinea cruris, tinea corporis and tinea faciei with topical application of honey, olive oil and beeswax mixture: an open pilot study. *Complementary Therapies in Medicine*, *12*(1), 45–47. <http://doi.org/10.1016/j.ctim.2004.01.002>
- Anyanji, V. U., Mohamed, S., Zokti, J. A., & Ado, M. A. (2013). Anti-inflammatory properties of oil palm leaf (*Elaeis Guineensis* Jacq.) extract in aged rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *5*(4), 134–136.
- Ayeleso, A. O., Oguntibeju, O. O., & Brooks, N. L. (2015). Impact of co-administration of red palm oil (*Elaeis guineensis* Arecaceae) and rooibos (*Aspalathus linearis* Fabaceae) on glycaemic parameters, liver function and key glycolytic enzymes in

- diabetic rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(9), 1613–1619. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v14i9.10>
- Aziz, N. A., Halim, U. N., & Abdullah, N. S. (2015). Phytochemical screening and in vitro antibacterial activity of *elaeis guineensis* leaves extracts against human pathogenic bacteria. *Malaysian Journal of Analytic Sciences*, 19(4), 775–780.
- Babich, H., & Visioli, F. (2003). In vitro cytotoxicity to human cells in culture of some phenolics from olive oil. *Il Farmaco*, 58(5), 403–407. [http://doi.org/10.1016/S0014-827X\(03\)00048-X](http://doi.org/10.1016/S0014-827X(03)00048-X)
- Báidez, A. G., Gómez, P., Del Río, J. A., & Ortuño, A. (2006). Antifungal capacity of major phenolic compounds of *Olea europaea* L. against *Phytophthora megasperma* Drechsler and *Cylindrocarpon destructans* (Zinssm.) Scholten. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 69(4–6), 224–229. <http://doi.org/10.1016/j.pmpp.2007.05.001>
- Belitz, H.D., Grosch, W. Shieberle, P. (2004) Food Chemistry, (3th Edition), SpringerVerlag, Alemanha.
- Bianchi, A. E., Macedo, V. P., Duarte, M. M. . . . F., Lopes, L. S., Stefani, L. M., Rossett, J., . . . Da Silva, A. S. (2014). The effect of palm oil addition to the diet of dairy sheep on the immune response. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98(3), 446–452. <http://doi.org/10.1111/jpn.12091>
- Bisignano, G., Tomaino, A., Cascio, R. Lo, Crisafi, G., Uccella, N., & Saija, A. (1999). On the In-vitro Antimicrobial Activity of Oleuropein and Hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51(8), 971–974. <http://doi.org/10.1211/0022357991773258>
- Boateng, L., Ansong, R., Owusu, W. B., & Steiner-Asiedu, M. (2016). Coconut oil and palm oil's role in nutrition, health and national development: A review. *Ghana Medical Journal*, 50(3), 189–196.
- Boskou, D., Blekas, G., & Tsimidou, M. (2006) - Olive Oil Composition. Olive Oil Chemistry and Technology (Second Edi., pp. 41-76). AOCS Publishing
- Bubonja-Sonje, M., Giacometti, J., & Abram, M. (2011). Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*,

- 127(4), 1821–1827. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.071>
- Buckland, G., Travier, N., Cottet, V., González, C. A., Luján-Barroso, L., Agudo, A., ... Riboli, E. (2013). Adherence to the mediterranean diet and risk of breast cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition cohort study. *International Journal of Cancer*, 132(12), 2918–2927. <http://doi.org/10.1002/ijc.27958>
- Bulotta, S., Celano, M., Lepore, S. M., Montalcini, T., Pujia, A., & Russo, D. (2014). Beneficial effects of the olive oil phenolic components oleuropein and hydroxytyrosol: focus on protection against cardiovascular and metabolic diseases. *Journal of Translational Medicine*, 12(1), 219. <http://doi.org/10.1186/s12967-014-0219-9>
- Castro, M., Romero, C., de Castro, A., Vargas, J., Medina, E., Millán, R., & Brenes, M. (2012). Assessment of Helicobacter pylori Eradication by Virgin Olive Oil. *Helicobacter*, 17(4), 305–311. <http://doi.org/10.1111/j.1523-5378.2012.00949.x>
- Che Idris, C. A., Karupaiah, T., Sundram, K., Tan, Y. A., Balasundram, N., Leow, S.-S., ... Sambanthamurthi, R. (2014). Oil palm phenolics and vitamin E reduce atherosclerosis in rabbits. *Journal of Functional Foods*, 7, 541–550. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2014.01.002>
- Cicerale, S., Lucas, L., & Keast, R. (2012). Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 129–135. <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.09.006>
- Cunha, S. C., Amaral, J. S., Fernandes, J. O., & Oliveira, M. B. P. P. (2006). Quantification of Tocopherols and Tocotrienols in Portuguese Olive Oils Using HPLC with Three Different Detection Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(9), 3351–3356. <http://doi.org/10.1021/jf053102n>
- Decreto-Lei nº343/88, artigo nº 8, Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação Lisboa: Diário da Republica, 1988, 1ª Serie, Nº225
- Decreto-Lei nº106/2005, artigo nº 8, Ministério da Agricultura, do desenvolvimento rural e das pescas Lisboa: Diário da Republica, 2005, 1ª Serie, Nº123

- De Pablos, L. M., dos Santos, M. F. B., Montero, E., Garcia-Granados, A., Parra, A., & Osuna, A. (2010). Anticoccidial activity of maslinic acid against infection with *Eimeria tenella* in chickens. *Parasitology Research*, 107(3), 601–604. <http://doi.org/10.1007/s00436-010-1901-3>
- Esteve, C., D'Amato, A., Marina, M. L., García, M. C., Citterio, A., & Righetti, P. G. (2012). Identification of olive (*Olea europaea*) seed and pulp proteins by nLC-MS/MS via combinatorial peptide ligand libraries. *Journal of Proteomics*, 75(8), 2396–2403. <http://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.02.020>
- Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M.-I., Corella, D., Arós, F., ... Martínez-González, M. A. (2013). Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *New England Journal of Medicine*, 368(14), 1279–1290. <http://doi.org/10.1056/NEJMoa1200303>
- Fogli, S., Arena, C., Carpi, S., Polini, B., Bertini, S., Digiaco, M., ... Macchia, M. (2016). Cytotoxic Activity of Oleocanthal Isolated from Virgin Olive Oil on Human Melanoma Cells. *Nutrition and Cancer*, 68(5), 873–877. <http://doi.org/10.1080/01635581.2016.1180407>
- Furneri, P. M., Marino, A., Saija, A., Uccella, N., & Bisignano, G. (2002). In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 20(4), 293–296. [http://doi.org/10.1016/S0924-8579\(02\)00181-4](http://doi.org/10.1016/S0924-8579(02)00181-4)
- Gan, P. Y., & Li, Z. D. (2014). Econometric study on Malaysia's palm oil position in the world market to 2035. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 39, 740–747. <http://doi.org/10.1016/j.rser.2014.07.059>
- Gandul-Rojas, B., & Minguez-Mosquera, M. I. (1996). Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72(1), 31–39. [http://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199609\)72:1<31::AID-JSFA619>3.0.CO;2-](http://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(10.1002/(SICI)1097-0010(199609)72:1<31::AID-JSFA619>3.0.CO;2-)
- Geweely, N. S. I. (2006). Antifungal Activity of Ozonized Olive Oil (Oleozone). *International Journal of Agriculture & Biology*, 8(5), 670–675.
- Giuffrida, D., Salvo, F., Salvo, A., La Pera, L., & Dugo, G. (2007). Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various sicilian olive varieties. *Food Chemistry*, 101(2), 833–837. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.030>

- Goel, N., Rohilla, H., Singh, G., & Punia, P. (2016). Antifungal Activity of Cinnamon Oil and Olive Oil against *Candida* Spp. Isolated from Blood Stream Infections. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(8), 9–11. <http://doi.org/10.7860/JCDR/2016/19958.8339>
- Goh, S. H., Choo, Y. M., & Ong, S. H. (1985). Minor constituents of palm oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62(2), 237–240. <http://doi.org/10.1007/BF02541384>
- Goh, S. H., Hew, N. F., Norhanom, A. W., & Yadav, M. (1994). Inhibition of tumour promotion by various palm-oil tocotrienols. *International Journal of Cancer*, 57(4), 529–531. <http://doi.org/10.1002/ijc.2910570415>
- Gouvinhas, I., Machado, N., Cunha, M., Pereira, M., Matos, C., Gomes, S., ... Barros, A. I. R. N. . (2015). Trace Element Content of Monovarietal and Commercial Portuguese Olive Oils. *Journal of Oleo Science*, 64(10), 1083–1093. <http://doi.org/10.5650/jos.ess15101>
- Guinaz, M., Milagres, R. C. R. M., Pinheiro-Sant'Ana, H. M., & Chaves, J. B. P. (2009). Tocoferóis e tocotrienóis em óleos vegetais e ovos. *Química Nova*, 32(8), 2098–2103. <http://doi.org/10.1590/S0100-40422009000800021>
- Gutiérrez, A; Carretero, A. (2009) - El Aceite de Oliva Virgen: Tesoro de Andalucía; Fundación Unicaja, Espanha
- Hashmi, M. A., Khan, A., Hanif, M., Farooq, U., & Perveen, S. (2015). Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology of *Olea europaea* (Olive). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–29. <http://doi.org/10.1155/2015/541591>
- Jabraeile, M., Rasooly, A., Farshi, M., & Malakouti, J. (2016). Effect of olive oil massage on weight gain in preterm infants: A randomized controlled clinical trial. *Nigerian Medical Journal*, 57(3), 160–163. <http://doi.org/10.4103/0300-1652.184060>
- Jassim, S. A. A., & Naji, M. A. (2010). In Vitro Evaluation of the Antiviral Activity of an Extract of Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Pits on a *Pseudomonas* Phage. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 7(1), 57–62. <http://doi.org/10.1093/ecam/nem160>
- Jesus, A. A., Almeida, L. C., Silva, E. A., Filho, L. C., Egues, S. M. S., Franceschi, E.,

- ... Dariva, C. (2013). Extraction of palm oil using propane, ethanol and its mixtures as compressed solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, *81*, 245–253. <http://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.06.011>
- Kalua, C. M., Allen, M. S., Bedgood, D. R., Bishop, A. G., Prenzler, P. D., & Robards, K. (2007). Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chemistry*, *100*(1), 273–286. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.059>
- Korukluoglu, M., Sahan, Y., Yigit, A., Ozer, E. T., & Gücer, S. (2010). Antibacterial activity and chemical constitutions of olea europea L. leaf extracts. *Journal of Food Processing and Preservation*, *34*(3), 383–396. <http://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00318.x>
- Lee-Huang, S., Zhang, L., Huang, P. L., Chang, Y.-T., & Huang, P. L. (2003). Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV-1 infection and OLE treatment. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *307*(4), 1029–1037. [http://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)01292-0](http://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)01292-0)
- Lipworth, L., Martínez, M. E., Angell, J., Hsieh, C.-C., & Trichopoulos, D. (1997). Olive Oil and Human Cancer: An Assessment of the Evidence. *Preventive Medicine*, *26*(2), 181–190. <http://doi.org/10.1006/pmed.1996.9977>
- Luchetti, F. (2002). Importance and future of Olive oil in the world market – an introduction to olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *104*(9–10), 559–563. [http://doi.org/10.1002/1438-9312\(200210\)104:9/10<559::AID-EJLT559>3.0.CO;2-Q](http://doi.org/10.1002/1438-9312(200210)104:9/10<559::AID-EJLT559>3.0.CO;2-Q)
- Mancini, A., Imperlini, E., Nigro, E., Montagnese, C., Daniele, A., Orrù, S., & Buono, P. (2015). Biological and Nutritional Properties of Palm Oil and Palmitic Acid: Effects on Health. *Molecules*, *20*(9), 17339–17361. <http://doi.org/10.3390/molecules200917339>
- Markin, D., Duek, L., & Berdicevsky, I. (2003). In vitro antimicrobial activity of olive leaves. Antimikrobielle Wirksamkeit von Olivenblättern in vitro. *Mycoses*, *46*(3–4), 132–136. <http://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2003.00859.x>
- Martín-Peláez, S., Covas, M. I., Fitó, M., Kušar, A., & Pravst, I. (2013). Health effects of

- olive oil polyphenols: Recent advances and possibilities for the use of health claims. *Molecular Nutrition and Food Research*, 57(5), 760–771. <http://doi.org/10.1002/mnfr.201200421>
- Md Sarip, M. S., Morad, N. A., Yamashita, Y., Tsuji, T., Yunus, M. A. C., Aziz, M. K. A., & Lam, H. L. (2016). Crude palm oil (CPO) extraction using hot compressed water (HCW). *Separation and Purification Technology*, 169, 103–112. <http://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.06.001>
- Micol, V., Caturla, N., Pérez-Fons, L., Más, V., Pérez, L., & Estepa, A. (2005). The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antiviral Research*, 66(2–3), 129–136. <http://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.02.005>
- Motamedifar, M., Nekooeian, A. A., & Moatari, A. (2007). The effect of hydroalcoholic extract of olive leaves against herpes simplex virus type 1. *Iranian Journal of Medical ...*, 32(4), 222–226. Retrieved from <http://ijms.sums.ac.ir/index.php/ijms/article/view/225>
- Nesaretnam, K., Radhakrishnan, A., Selvaduray, K. R., Reimann, K., Pailoor, J., Razak, G., ... Dahliwal, J. S. (2002). Effect of palm oil carotene on breast cancer tumorigenicity in nude mice. *Lipids*, 37(6), 557–560. <http://doi.org/10.1007/s11745-002-0932-0>
- NIH. (2016). Retirado de <https://medlineplus.gov/>
- Odia, O. J. (2015). Palm oil and the heart: A review. *World Journal of Cardiology*, 7(3), 144. <http://doi.org/10.4330/wjc.v7.i3.144>
- Oğraş, Ş. Ş., Kaban, G., & Kaya, M. (2016). The Effects of Geographic Region, Cultivar and Harvest Year on Fatty Acid Composition of Olive Oil. *Journal of Oleo Science*, 65(11), 889–895. <http://doi.org/10.5650/jos.ess15270>
- Oguntibeju, O. O., Esterhuysen, A. J., & Truter, E. J. (2010). Possible role of red palm oil supplementation in reducing oxidative stress in HIV / AIDS and TB patients : A Review. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(3), 188–196.
- Owen, R. W., Giacosa, A., Hull, W. E., Haubner, R., Würtele, G., Spiegelhalter, B., & Bartsch, H. (2000). Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *The Lancet Oncology*, 1(2), 107–112. <http://doi.org/10.1016/S1470->

2045(00)00015-2

- Owoyele, B. V., & Owolabi, G. O. (2014). Traditional oil palm (*Elaeis guineensis* jacq.) and its medicinal uses: A review. *Tang Humanitas Medicine*, 4(3), 16. <http://doi.org/10.5667/tang.2014.0004>
- Parfene, G., Horincar, V. B., & Bahrim, G. (2011). Screening for Fatty Acids With Antimicrobial Activity By Enzymatic Hydrolysis of Crude Palm Kernel Oil With Different Microbial Lipases. *DUNAREA DE JOS*, 319–325.
- Rajabi, O., Sazgarnia, A., Abbasi, F., & Layegh, P. (2015). The activity of ozonated olive oil against leishmania major promastigotes. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(9), 915–919.
- Rajoo, A., Sasidharan, S., Jothy, S. L., Ramanathan, S., & Mansor, S. M. (2013). Ultrastructural Study of *Elaeis guineensis* (Oil Palm) Leaf and Antimicrobial Activity of its Methanol Extract against *Staphylococcus Aureus*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(3), 419–423. <http://doi.org/10.4314/tjpr.v12i3.22>
- Rival, A., & Levang, P. (2015). *The Oil Palm (Elaeis guineensis): Research Challenges Beyond Controversies. Palms* (Vol. 59).
- Romero, C., Medina, E., Vargas, J., Brenes, M., & De Castro, A. (2007). In Vitro Activity of Olive Oil Polyphenols against *Helicobacter pylori*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 680–686. <http://doi.org/10.1021/jf0630217>
- Rosato, V., Guercio, V., Bosetti, C., Negri, E., Serraino, D., Giacosa, A., ... Tavani, A. (2016). Mediterranean diet and colorectal cancer risk: a pooled analysis of three Italian case–control studies. *British Journal of Cancer*, 115(7), 862–865. <http://doi.org/10.1038/bjc.2016.245>
- Salem, M. Ben, Affes, H., Ksouda, K., Sahnoun, Z., Zeghal, K. M., & Hammami, S. (2015). Pharmacological Activities of *Olea europaea* Leaves. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 3128–3136. <http://doi.org/10.1111/jfpp.12341>
- Sambanthamurthi, R. (2000). Chemistry and biochemistry of palm oil. *Progress in Lipid Research*, 39(6), 507–558. [http://doi.org/10.1016/S0163-7827\(00\)00015-1](http://doi.org/10.1016/S0163-7827(00)00015-1)
- Sánchez-González, M., Lozano-Mena, G., Juan, M. E., García-Granados, A., & Planas, J. M. (2013). Assessment of the safety of maslinic acid, a bioactive compound from *Olea europaea* L. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(2), 339–346.

<http://doi.org/10.1002/mnfr.201200481>

Sánchez, J.L., Carretero, A.S., & Gutiérrez, A.F. (2001) - Composición del aceite de oliva. In I. Omega 3 & F. Puleva (Eds.), *Aceite de oliva virgen: nuestro patrimonio alimentario* (pp. 195-224). Granada.

Sasidharan, S., Nilawaty, R., Xavier, R., Latha, L. Y., & Amala, R. (2010). Wound Healing Potential of *Elaeis guineensis* Jacq Leaves in an Infected Albino Rat Model. *Molecules*, *15*(5), 3186–3199. <http://doi.org/10.3390/molecules15053186>

Scarmeas, N., Stern, Y., Tang, M., Mayeux, R., & Luchsinger, J. A. (2006). Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*, *59*(6), 912–921. <http://doi.org/10.1002/ana.20854>

Serra, A. T., Seabra, I. J., Braga, M. E. M., Bronze, M. R., de Sousa, H. C., & Duarte, C. M. M. (2010). Processing cherries (*Prunus avium*) using supercritical fluid technology. Part 1: Recovery of extract fractions rich in bioactive compounds. *The Journal of Supercritical Fluids*, *55*(1), 184–191. <http://doi.org/10.1016/j.supflu.2010.06.005>

Sharif, F., Hamid, M., Ismail, A., & Adam, Z. (2015). Antihyperglycemic Activity of Oil Palm *Elaeis guineensis* Fruit Extract on Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Jurnal Sains Kesihatan Malaysia*, *13*(2), 37–43. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0367326X06001663>

Sifaoui, I., López-Arencibia, A., Martín-Navarro, C. M., Ticona, J. C., Reyes-Batlle, M., Mejri, M., ... Piñero, J. E. (2014). In vitro effects of triterpenic acids from olive leaf extracts on the mitochondrial membrane potential of promastigote stage of *Leishmania* spp. *Phytomedicine*, *21*(12), 1689–1694. <http://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.08.004>

Silalahi, J., Manurung, R., & Sitompul, E. (2014). Antibacterial activity of hydrolyzed oils of different fatty acid composition against *salmonella thypi* and *lactobacillus plantarum*. *International Journal of PharmTech Research*, *7*(2), 233–237.

Srivastava, J. K., & Gupta, S. (2006). Tocotrienol-rich fraction of palm oil induces cell cycle arrest and apoptosis selectively in human prostate cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *346*(2), 447–453.

<http://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.05.147>

- Sudjana, A. N., D’Orazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., ... Hammer, K. A. (2009). Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(5), 461–463. <http://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.10.026>
- Sun, Y., Neelakantan, N., Wu, Y., Lote-Oke, R., Pan, A., & van Dam, R. M. (2015). Palm Oil Consumption Increases LDL Cholesterol Compared with Vegetable Oils Low in Saturated Fat in a Meta-Analysis of Clinical Trials. *Journal of Nutrition*, 145(7), 1549–1558. <http://doi.org/10.3945/jn.115.210575>
- Sundram, K., Sambanthamurthi, R., & Tan, Y.-A. (2003). Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 12(3), 355–62. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14506001>
- Susalit, E., Agus, N., Effendi, I., Tjandrawinata, R. R., Nofiarny, D., Perrinjaquet-Moccetti, T., & Verbruggen, M. (2011). Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage-1 hypertension: Comparison with Captopril. *Phytomedicine*, 18(4), 251–258. <http://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.08.016>
- Syahmi, A. R. M., Vijayarathna, S., Sasidharan, S., Latha, L. Y., Kwan, Y. P., Lau, Y. L., ... Chen, Y. (2010). Acute Oral Toxicity and Brine Shrimp Lethality of *Elaeis guineensis* Jacq., (Oil Palm Leaf) Methanol Extract. *Molecules*, 15(11), 8111–8121. <http://doi.org/10.3390/molecules15118111>
- Tan, Y.-A., Sambanthamurthi, R., Sundram, K., & Wahid, M. B. (2007). Valorisation of palm by-products as functional components. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(4), 380–393. <http://doi.org/10.1002/ejlt.200600251>
- Teixeira, C. B., Macedo, G. A., Macedo, J. A., da Silva, L. H. M., & Rodrigues, A. M. da C. (2013). Simultaneous extraction of oil and antioxidant compounds from oil palm fruit (*Elaeis guineensis*) by an aqueous enzymatic process. *Bioresource Technology*, 129, 575–581. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.057>
- Upadhyay, R. K. (2014). Evaluation of antibacterial and antifungal activities of olive (*Olea europaea*) essential oil. *International Journal of Green Pharmacy*, 8(3), 180. <http://doi.org/10.4103/0973-8258.140178>
- Verallo-Rowell, V. M., Dillague, K. M., & Syah-Tjundawan, B. S. (2008). Novel

- antibacterial and emollient effects of coconut and virgin olive oils in adult atopic dermatitis. *Dermatitis*, 19(6), 308–315. <http://doi.org/10.2310/6620.2008.08052>
- Vijayarathna, S., & Sasidharan, S. (2012). Cytotoxicity of methanol extracts of *Elaeis guineensis* on MCF-7 and Vero cell lines. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(10), 826–829. [http://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60237-8](http://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60237-8)
- Vijayarathna, S., Zakaria, Z., Chen, Y., Latha, L. Y., Kanwar, J. R., & Sasidharan, S. (2012). The Antimicrobial Efficacy of *Elaeis guineensis*: Characterization, in Vitro and in Vivo Studies. *Molecules*, 17(5), 4860–4877. <http://doi.org/10.3390/molecules17054860>
- Waterman, E., & Lockwood, B. (2007). Active components and clinical applications of olive oil. *Alternative Medicine Review*, 12(4), 331–342.
- Wattanapenpaiboon, N., & Wahlqvist, M. L. (2003). Phytonutrient deficiency: the place of palm fruit. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 12(3), 363–368.
- Wu, S.-J., Liu, P.-L., & Ng, L.-T. (2008). Tocotrienol-rich fraction of palm oil exhibits anti-inflammatory property by suppressing the expression of inflammatory mediators in human monocytic cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(8), 921–929. <http://doi.org/10.1002/mnfr.200700418>
- Yin, N. G. S., Abdullah, S., & Phin, C. K. (2013). Phytochemical constituents from leaves of *Elaeis Guineensis* and their antioxidant and antimicrobial activities. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 137–140.
- Zainal, Z., Longman, A. J., Hurst, S., Duggan, K., Hughes, C. E., Caterson, B., & Harwood, J. L. (2009). Modification of palm oil for anti-inflammatory nutraceutical properties. *Lipids*, 44(7), 581–592. <http://doi.org/10.1007/s11745-009-3304-8>